

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI MOLEKULER SERTA UJI
KETAHANAN BAKTERI TANAH PENGHASIL ENZIM
DEHALOGENASE TERHADAP HERBISIDA DMA6
(2,4-D DIMETIL AMINA) FORMULA**



Skripsi

Diajukan untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Meraih Gelar Sarjana Sains
Pada Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Alauddin Makassar

Oleh:

HAYATI

NIM. 60300114140

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI ALAUDDIN MAKASSAR**

2018

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Mahasiswa yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Hayati
NIM : 60300114140
Tempat/Tgl. Lahir : Lawas/12 Agustus 1996
Jur/Prodi : Biologi
Fakultas : Sains dan Teknologi
Alamat : BTN Cita Alam Lestari Blok B3 No 7 Gowa
Judul : Isolasi Dan Identifikasi Molekuler Serta Uji Ketahanan Bakteri Tanah Penghasil Enzim Dehalogenase Terhadap Herbisida DMA6 (2,4-D Dimetil Amina) Formula.

Saya menyatakan dengan sesungguhnya dan penuh kesadaran bahwa skripsi ini benar adalah hasil karya sendiri. Tidak ada bagian di dalamnya yang merupakan plagiat dari karya orang lain dan saya tidak melakukan penjiplakan atau pengutipan dengan cara-cara yang tidak sesuai dengan etika keilmuan yang berlaku dalam masyarakat keilmuan. Atas pernyataan ini, saya siap menanggung risiko/sanksi yang dijatuhkan kepada saya apabila kemudian ditemukan adanya pelanggaran terhadap etika keilmuan dalam karya saya ini, atau dalam klaim dari pihak lain terhadap keaslian karya saya ini.

Makassar, 16 November 2018

Penyusun,

Hayati

NIM: 60300114140

PERSETUJUAN PEMBIMBING

Pembimbing penulisan skripsi Saudari **Hayati**, NIM: 60300114140, mahasiswa Jurusan Biologi pada Fakultas Sains dan Teknologi UIN Alauddin Makassar, setelah meneliti dan mengoreksi dengan seksama proposal skripsi berjudul, “*Isolasi dan Identifikasi Molekuler serta Uji Ketahanan Bakteri Tanah Penghasil Enzim Dehalogenase Terhadap Herbisida DMA6 (2,4-D Dimetil Amina) Formula*”, memandang bahwa skripsi tersebut telah memenuhi syarat-syarat ilmiah dan dapat disetujui untuk diajukan ke sidang munaqasyah.

Demikian persetujuan ini diberikan untuk diproses lebih lanjut.

Makassar, 16 November 2018

Pembimbing I

Pembimbing II

Dr. Mashuri Masri, S.Si., M.Si.
NIP. 198012162009121003

Ulfa Triyani A. Latif, S.Si., M.Pd
NIDN. 2003038601

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
ALAUDDIN
M A K A S S A R

PENGESAHAN SKRIPSI

Skripsi yang berjudul, "*Isolasi dan Identifikasi Molekuler serta Uji Ketahanan Bakteri Tanah Penghasil Enzim Dehalogenase Terhadap Herbisida DMA6 (2,4-D Dimetil Amina) Formula*", yang disusun oleh Hayati, NIM: 60300114140, mahasiswa Jurusan Biologi pada Fakultas Sains dan Teknologi UIN Alauddin Makassar, telah diuji dan dipertahankan dalam sidang *munaqasyah* yang diselenggarakan pada hari Senin, tanggal 2018 M, bertepatan dengan 1 Jumadil Awal 1429 H, dinyatakan telah dapat diterima sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana dalam Ilmu Sains dan Teknologi, Jurusan Biologi (dengan beberapa perbaikan).

Makassar, 14 November 2018 M.
6 Rabiul Awal 1440 H.

DEWAN PENGUJI:

Ketua	: Prof. Dr. H. Arifuddin, M.Ag.	(.....)
Sekretaris	: St. Aisyah Sijid, S.Pd., M.Kes.	(.....)
Munaqisy I	: Isna Rasdianah Azis, S.Si., M.Sc.	(.....)
Munaqisy II	: Dr. Aan Parhani, L.c., M.Ag.	(.....)
Pembimbing I	: Dr. Mashuri Masri, S.Si., M.Kes.	(.....)
Pembimbing II	: Ulfa Triyani A. Latif, S.Si., M.Pd.	(.....)

Diketahui oleh:

Dekan Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Alauddin Makassar,



Prof. Dr. H. Arifuddin., M.Ag
NIP. 196912051993031001

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Warahmatulahi Wabarakatu

Puji syukur alhamdulillah penulis haturkan kepada Allah swt. yang telah melimpahkan segala Rahmat-Nya, Ilmu-Nya, Kesehatan-Nya, Waktu-Nya dan Hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul *“Isolasi dan Identifikasi Molekuler serta Uji Ketahanan Bakteri Tanah Penghasil Enzim Dehalogenase Terhadap Herbisida DMA6 (2,4-D Dimetil Amina) Formula.”* Shalawat serta salam senantiasa tercurahkan kepada baginda Rasul Muhammad SAW beserta keluarga dan sahabatnya. Skripsi ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana pada Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.

Selanjutnya penulis haturkan ucapan terima kasih doa dan harapan kepada semua pihak yang telah membantu terselesaikannya skripsi ini. Skripsi ini tidak terlepas dari dukungan, motivasi, kerjasama maupun bimbingan dari berbagai pihak. Ucapan terima kasih ini penulis ucapkan kepada :

1. Bapak Prof. Dr. H. Musafir Pababbari, M.Ag., selaku Rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Alauddin Makassar serta sejarannya.
2. Bapak Prof. Dr. H. Arifuddin Ahmad, M.Ag., selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Alauddin Makassar dan sejarannya.
3. Bapak Dr. Mashuri Masri, S.Si., M.Kes., selaku Ketua Jurusan Biologi di Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi sekaligus pembimbing I yang dengan sabar

membimbing kami memberi kami motivasi-motivasi, kemudahan dalam setiap urusan akademik kami, yang selalu memperjuangkan mahasiswa BIOLOGI agar mudah dalam menyelesaikan studinya termasuk penulis, terima kasih pak atas segala kebaikannya semoga Allah swt. selalu menaungi bapak dan sekeluarga kemudian kelak dikumpulkan di Jannah-Nya.

4. Ibu Ulfa Triyani A. Latif, S.Si., M.Pd., sebagai pembimbing II yang dengan sabar memberikan bimbingan, arahan, masukan baik dari keilmuan maupun agama yang dengan tulus hati meluangkan waktu membimbing dan selalu memberi motivasi-motivasi yang sangat bermanfaat selama penulis menyusun skripsi ini, yang selalu memberi kemudahan untuk penulis. Dosen yang sangat amat sabar menghadapi semua tingkah kami yang kadang membuat ibu merasa tidak enak, sekali lagi terima kasih atas bimbingannya selama ini ibu, sehingga skripsi ini dapat terselesaikan. Semoga rahmat dan kasih sayang Allah swt. selalu menaungi ibu dan keluarga kemudian kelak dikumpulkan di Jannah-Nya.
5. Bapak Prof. Fahrul Zaman Huyop, PhD.,DPAM. Selaku kepala Dekan Research/Innovation/Commercialization dan Networking, Faculty of Biosciences and Medical Engineering (FBME) Universiti Teknologi Malaysia yang telah membimbing penulis selama kurang lebih 4 bulan PKL di UTM. Beliau juga yang telah memberi penulis sebuah Judul penelitian sehingga penulis sekarang telah berhasil menyelesaikan studi ini. Terima kasih karena atas dukungan, bantuan dan motivasi Prof, penulis dapat menyelesaikan studinya. Semoga rahmat dan kasih

sayang Allah swt. selalu menaungi Prof. dan keluarga kemudian kelak dikumpulkan di Jannah-Nya.

6. Ibu Isna Rasdianah Aziz S.Si., M.Sc., selaku Dosen Penguji dan juga sebagai dosen pembimbing yang telah banyak memberikan masukan serta saran yang sangat membangun untuk memulai penelitian dan penulisan skripsi. Karena atas saran dan masukan beliau sehingga penelitian yang saya lakukan lebih berkualitas. Semoga rahmat dan kasih sayang Allah swt. selalu menaungi ibu dan keluarga kemudian kelak dikumpulkan di Jannah-Nya.
7. Bapak Dr. Aan Farhani, L.c.,M.Ag selaku dosen penguji yang telah banyak memberi masukan dan motivasi yang sangat bermanfaat untuk penulis. Terima kasih untuk bapak yang telah rela meluangkan waktunya demi menghadiri setiap pelaksanaan ujian penulis. Karena Beliau sehingga penulis dapat menyelesaikan studinya. Semoga rahmat dan kasih sayang Allah swt. selalu menaungi Beliau dan keluarga kemudian kelak dikumpulkan di Jannah-Nya.
8. Ibu St Aisyah Sijid, S.Pd., M.Kes selaku dosen sekretaris yang selalu hadir dalam setiap pelaksanaan ujian penulis. Tanpa beliau sehingga penulis dapat menyelesaikan studi ini. Semoga rahmat dan kasih sayang Allah swt. selalu menaungi ibu dan keluarga kemudian kelak dikumpulkan di Jannah-Nya.
9. Bapak Hasyimuddin S.Si., M.Si. Selaku Sekertaris Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Alauddin Makassar dan yang juga sempat menggantikan posisi ibu Ati untuk proses surat menyurat dan transkrip nilai . Tanpa Bapak penelitian penulis tidak akan berjalan.

10. Seluruh Bapak/Ibu Dosen Pengajar yang selama ini telah mengajarkan banyak hal serta pengetahuan yang penulis belum pernah dapatkan dimana pun, semoga Allah swt selalu memberikan rahmat dan hidayahNya kepada bapak/ibu.
11. Kepada para Laboran Jurusan Biologi ibu Kurni, bapak Nain, ibu Sidar dan Ibu Faridah yang selalu mendampingi penulis dalam bekerja di labolatorium mulai dari penulis menjadi praktikan hingga penulis melakukan penelitian untuk penyelesaian tugas akhir, semoga Allah swt selalu memberikan rahmat dan hidayah-Nya kepada beliau.
12. Karyawan dan Staf dalam lingkup Fakultas Sains dan Teknologi UIN Alauddin Makassar yang telah banyak membantu penulis dalam mengurus surat-menyeratnya.
13. Untuk yang sangat penulis sayangi dan cintai Bapak, Mama, Kakak dan keluargaku tercinta yang telah mendidik dan memberikan kasih sayang dari kecil hingga sekarang dengan sepuh hati tanpa sedikit pun mengeluh. Serta telah memberikan doa restunya dalam segala kegiatan dan selalu memberikan semangat baik materi dan moril kepada penulis dalam menuntut ilmu. Semoga rahmat dan kasih sayang Allah swt selalu menaungi mereka dan kemudian kelak dikumpulkan di Jannah-Nya.
14. Terima kasih kepada saudara sepupu Aslia, Aisyah, Arna, Asman, Asra dan Amrin yang telah mendukung, memotivasi penulis untuk selalu bersemangat dalam mengerjakan semua tugas-tugas selama proses perkuliahan, yang telah

menganggap penulis layaknya adik kandung sendiri, membantu penulis dan hal moral maupun moril. Semoga rahmat dan kasih sayang Allah swt selalu menaungi mereka dan kemudian kelak dikumpulkan di Jannah-Nya.

15. Terima kasih kepada ibu Ati yang sangat membantu penulis dalam mengurus surat-menyurat penelitin dan transkrip nilai penulis. Semoga Allah swt selalu memberikan rahmat dan hidayahNya kepada beliau sekeluarga dan kemudian kelak dikumpulkan di Jannah Nya.
16. Terima Kasih kepada angkatan saya LACTEAL yang sangat saya banggakan (Nurman ketua angkatanku, Gamal, Alir, Chum, Andika, Ari, Salim, Wahid, Saiful, Aksan, Khaliq, Haidir, Uga, Kurni, Puja, Irhamniah, Tari, Inang, Susan, Nunu, Fira, Almik, Uni Hakim, Inna, Ame, Nini, Eka, Wiwi, Fifit, Nabila, Risma, Ria, Marda, Eni, Jumania, Uni, Adin, Adis, Nana, Yaya, Nirwana, Fitria, Nurul, Nuka, Nini, Siti Fatima, Ima, Titi, Sinar Annisa, Dina, Rati, Hamida, Rasti, Cahaya, Sisil, dan Fhia) kalian adalah saudara-saudara saya semoga kita bisa wisudah bersama-sama dan sukses.
17. Terima kasih kepada teman The Squad (Susan, Uga, Nunu, Inang, Kurni, Almik, Uni, Fira) yang selalu memberi semangat, motivasi, bantuan moral maupun moril kepada penulis, terima kasih karena telah membuat hari-hari penulis selalu berwarna dan bagahia, peulis bangga memiliki kalian, Semoga Allah swt selalu memberikan rahmat dan hidayahNya kepada kita semua dan keluarga dan kemudian kelak dikumpulkan di Jannah-Nya.

18. Terima kasih kepada teman-teman lab Mikro yang selalu memberi semangat untuk tetap berjuang dan selalu sabar serta tidak cepat putus asa dalam penelitian.
19. Terima kasih kepada Nur Anugrah dan Sri Kurniati yang selalu membantu penulis selama penelitian, memberikan semangat, dan semoga kita bias sama sama wisuda bulan Desember.
20. Terima kasih kepada Irhamniah dan Pujarena Putri Idris teman rumah saya, yang selalu memberi warna-warni selama tinggal serumah, yang selalu memberi semangat dan juga motivasi semoga kita bias sama-sama wisuda bulan 12 Desember.
21. Terima Kasih kepada Zulfahmi Satria dengan suka maupun duka mendukung, memotivasi, membantu penulis dalam hal moral maupun moril, semoga Allah membalsanya dengan sesuatu yang lebih besar.
22. Terima kasih kepada telur BALADO MANTAP.

Semoga Allah swt memberikan balasan atas segala bantuannya. Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih jauh dari kata sempurna, oleh karena itu saran dan kritikan yang membangun sangat penulis harapkan. Semoga penulisan skripsi ini bermanfaat bagi kita semua. Aamiin yaa robbal aalaamiinn.

Makassar, 14 November 2018

Penulis

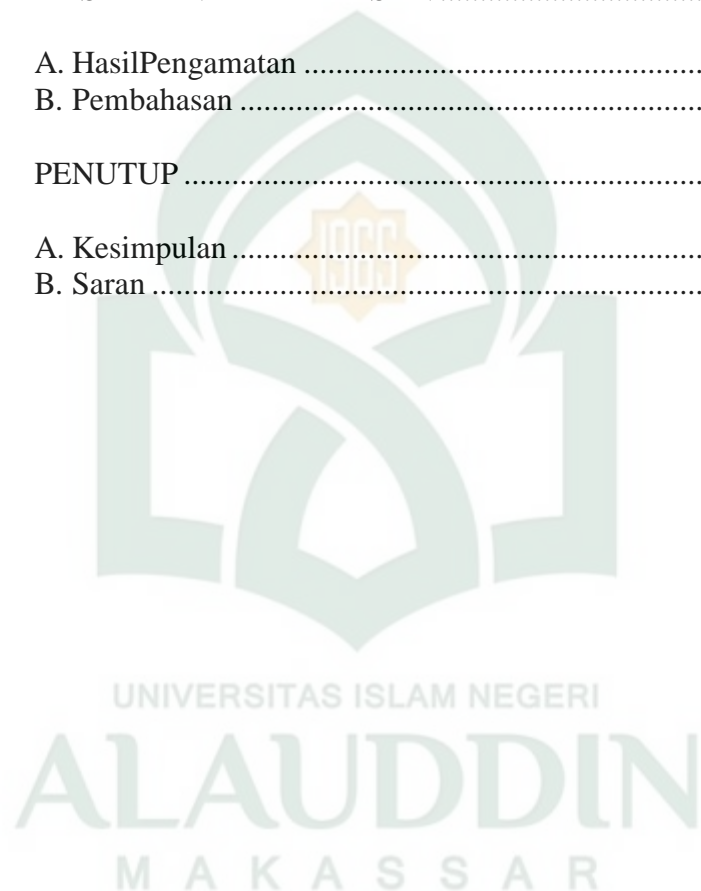
Hayati

Nim : 60300114140

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL	i
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI.....	ii
PENGESAHAN SKRIPSI	iii
PERSETUJUAN PEMBIMBING.....	iv
KATA PENGANTAR	x
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xv
ABSTRAK	xvi
ABSTRACT	
 BAB I	
PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah.....	4
C. Ruang Lingkup Penelitian	4
D. Kajian Pustaka	5
E. Tujuan Penelitian	6
F. Kegunaan Penelitian	6
 BAB II	
TINJAUAN TEORITIS.....	8
A. Ayat al-Qur'an yang Relevan	8
B. Tinjauan Tentang Isolasi Bakteri	12
C. Tinjauan Tentang Enzim Dehalogenase	15
D. Tinjauan Umum Tentang Herbisida DMA6 (2,4-D Dimehtil Amina) Formula	19
E. Tinjauan Umum Tentang Identifikasi Molekuler Amplifikasi Gen 16S-rRNA	26
F. Tinjauan Umum Tentang PCR (<i>Polymerase Chain Reaction</i>).....	28
G. Tinjauan Tentang Elektroforesis Gel Agarose.....	32
H. Tinjauan Tentang Sekuensing.....	34
I. Kerangka Berfikir	37
 BAB III	
METODOLOGI PENELITIAN	38
A. Jenis dan Pendekatan Penelitian	38

	B. Waktu dan Lokasi Penelitian	38
	C. Populasi dan Sampel	38
	D. Variable Penelitian	39
	E. Definisi Operasional Variabel	39
	F. Metode Pengumpulan Data	39
	G. Alat dan Bahan	39
	H. Prosedur Kerja	41
BAB IV	HASIL DAN PEMBAHASAN	52
	A. Hasil Pengamatan	52
	B. Pembahasan	54
BAB V	PENUTUP	70
	A. Kesimpulan	70
	B. Saran	70



DAFTAR TABEL

3.3.b	Komposisi Primer Mix.....	47
4.1.	Karakterisasi Bakteri.....	49
4.2.	Uji Ketahanan Bakteri Dehalogenase Pada Substrat Herbisida DMA6 (2,4-D Dimetil Amina Dengan Berbagai Konsentrasi	50
4.3	Hasil identifikasi molekuler Isolat bakteri VI dan X menggunakan BLAST dari NCBI.....	50



DAFTAR LAMPIRAN

LAMPIRAN 1. Pengambilan Sampel Tanah	78
LAMPIRAN 2. Diagram Sterilisasi Alat	78
LAMPIRAN 3. Preparasi Medium Cair Basal Garam SBS (<i>Solution Base Salt</i>).....	79
LAMPIRAN 4. Pengukuran Pelepasan Klorin	80
LAMPIRAN 5. Isolasi Bakteri pada Media NA (<i>Nutrient Agar</i>) Melalui Seri Pengenceran Bertingkat.....	81
LAMPIRAN 6. Isolasi Bakteri pada Media padat NA (<i>Nutrient Agar</i>) Miring.....	83
LAMPIRAN 7. Isolasi dan Pemeliharaan Bakteri Penghasil Enzim Dehalogenase Menggunakan Media SBS (<i>Solution Base Salt</i>) dengan Substrat Herbisida DMA6 (2,4-D dimetil amina)	85
LAMPIRAN 8. Seleksi Bakteri Penghasil Enzim Dehalogenase Pada Media Indicator SBS (<i>Solution Base Salt</i>) Ditambah BTB (<i>Bromthymol Blue</i>).	87
LAMPIRAN 9. Seleksi Bakteri Dehalogenase pada Berbagai Konsentrasi Herbisida DMA6 (2,4-D dimetil amina).....	89
LAMPIRAN 10. Pewarnaan Gram	95
LAMPIRAN 11. Alur Identifikasi Molekuler.....	97

LAMPIRAN 12. Hasil Analisis Sekuensing Isolat VI.....	99
Hasil Analisis Sekuensing Isolat X.....	104



ABSTRAK

Nama : Hayati
NIM : 60300114140
Judul Skripsi : “*Isolasi dan Identifikasi Molekuler Serta Uji Ketahanan Bakteri Tanah Penghasil Enzim Dehalogenase Terhadap Herbisida DMA6 (2,4-D Dimetil Amina) Formula.*”

Herbisida DMA6 (2,4-D dimetil amina) Formula merupakan salah satu jenis herbisida yang masuk dalam golongan fenoksi. 2,4-D Dimetil amina juga merupakan herbisida dengan persistensi rendah, namun senyawa ini berpotensi sebagai polutan. Beberapa bakteri tanah memiliki serangkaian enzim mengkatalis senyawa toksis ini. Penelitian ini dilakukan untuk mendapatkan spesies bakteri tanah penghasil enzim dehalogenasi dan untuk menguji ketahanan isolat bakteri dalam menggunakan DMA6 sebagai sumber karbon dengan variasi konsentrasi 0,173 ml; 0,346 ml; dan 0,519 ml. Parameter yang digunakan uji kualitatif menggunakan medium minimal SBS (*Solution Base Salt*) dan indikator BTB (*Bromthymol Blue*). Isolat yang mampu tumbuh pada 3 kali dosis aplikasi dilapanganakan digunakan untuk uji selanjutnya yaitu identifikasi molekuler. Isolat I, IV, VI dan X telah diidentifikasi molekuler, isolat VI dan X adalah isolat yang berhasil dianalisis nukleotidanya menggunakan BLAST. Bakteri yang didapat *Bacillus cereus* strain M13 dan *Bacillus thuringiensis* strain QZL38.

KataKunci :Dehalogenasi, DMA6 (2,4-D dimetil amina), Dehalogenase, *Bacillus cereus* strain M13, *Bacillus cereus* strain FC993,

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
ALAUDDIN
M A K A S S A R

ABSTRACT

Nama : Hayati
NIM : 60300114140
Judul Skripsi : “Isolation and Molecular Identification and Resistance of Dehalogenase-Producing Soil Bacteria to Herbicides DMA6 (2,4-D Dimethyl Amine) Formula.”

DMA6 herbicide (2,4-D dimethyl amine) Formula is one type of herbicide included in the phenoxy group. 2,4-D Dimethyl amine is also a low persistence herbicide, but this compound has the potential as a pollutant. Some soil bacteria have a series of enzymes catalyzing this toxic compound. This study was conducted to obtain bacterial species of dehalogenation and to test the resistance of bacterial isolates using DMA6 as a carbon source with a concentration of 0.173 ml; 0.346 ml; and 0.519 ml. The parameters used are qualitative tests using a minimal medium SBS (*Solution Base Salt*) and BTB indicator (*Blue Bromthymol*). Isolates that are able to grow at a dose of 3 times the application dose in the field will then be used for further testing of molecular identification. Isolates I, IV, VI and X were molecularly identified, isolates VI and X were isolates successfully analyzed by nucleotides using BLAST. Bacteria obtained by *Bacillus cereus* strain M13 and *Bacillus thuringiensis* strain QZL38

Kata Kunci : Dehalogenation, DMA6 (2,4-D dimethyl amine), Dehalogenase, *Bacillus cereus* strain M13, *Bacillus cereus* strain FC993,

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
ALAUDDIN
M A K A S S A R

Menurut Quraish dalam kitab al- Misbah(20013), menyatakan bahwa orang-orang berakal yaitu orang-orang yang senantiasa memikirkan ciptaan Allah, merenungkan keindahan ciptaan-Nya, kemudian dapat mengambil manfaat dari ayat-ayat kauniyah yang terbentang di jagat raya ini, seraya berzikir kepada Allah dengan hati, lisan, dan anggota tubuh. Mereka mengingat Allah sambil berdiri dan berjalan dengan melakukan aktivitas kehidupan. Mereka berzikir kepada-Nya seraya duduk di majelis-majelis zikir atau masjid, atau berzikir kepada-Nya dalam keadaan berbaring menjelang tidur dan saat istirahat setelah beraktivitas, dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi sebagai bukti kekuasaan Allah yang Mahaagung seraya berkata, "Ya Tuhan kami! Kami bersaksi bahwa tidaklah Engkau menciptakan semua ini sia-sia melainkan mempunyai hikmah dan tujuan di balik ciptaan itu semua. Mahasuci Engkau, kami bersaksi tiada sekutu bagi-Mu. Kami mohon kiranya Engkau melimpahkan taufik agar kami mampu beramal saleh dalam rangka menjalankan perintah-Mu, dan lindungilah kami dari murka-Mu sehingga kami selamat dari azab neraka.

Orang-orang yang beriman meyakini bahwa dalam perumpamaan penciptaan yang dilakukan oleh Allah swt. memiliki manfaat bagi kehidupan manusia. Sebagaimana Allah swt. menciptakan bakteri meskipun memiliki ukuran yang sangat kecil tidak dapat dilihat dengan mata telanjang tetapi keberadaannya memiliki manfaat yang besar bagi kehidupan manusia, hewan, dan tumbuhan.

Mikroorganisme di alam bebas hidup berkumpul di dalam suatu medium misalnya di dalam tanah, air, udara, kotoran hewan, sampah, tumbuhan, hewan, dan

manusia. Mikroorganisme mempunyai peranan penting dalam proses alami yang diperlukan untuk *survivenya* binatang, tumbuh-tumbuhan, serta mikroba itu sendiri. Untuk hidup mikroorganisme akan melakukan interaksi atau hubungan dengan lingkungannya. Mikroorganisme dapat ditemukan di semua tempat yang memungkinkan terjadinya kehidupan. Disuatu lokasi mikroorganisme tersebut dapat bersifat *transient* yaitu bertempat tinggal sementara atau *indigenous* yaitu sudah menetap beberapa turunan. Organisme yang terakhir tersebut umumnya dapat lebih bertahan pada kondisi buruk lingkungannya tersebut (Hanafiah, 2005).

Kelimpahan mikroorganisme di alam membuat seorang saintis harus mengetahui spesies mikroorganisme tertentu, sehingga dengan begitu akan memudahkan dalam mempelajarinya. Bakteri sebagai salah satu penghasil enzim yang potensial menjadi faktor penting dalam produksi enzim. Oleh karena itu diperlukan usaha penggalian galur-galur bakteri penghasil enzim dalam hal ini yaitu enzim dehalogenase.

Studi mengenai biodegradasi komponen terhalogenasi dimulai pada awal abad ke-20 terkait dengan banyaknya limbah dari senyawa terhalogenasi. Senyawa terhalogenasi bersifat toksik (Slater et al, 1995). Senyawa terhalogenasi berpotensi menyebabkan keracunan, teratogenik serta karsinogenik. Metabolit yang dihasilkan dari hasil biodegradasi senyawa organoklorin sering bersifat toksik karena menghambat reaksi-reaksi kunci di metabolisme sel. Beberapa mikrobia yang memiliki kemampuan tumbuh dan melakukan biodegradasi senyawa terhalogenasi karena memiliki enzim dehalogenase.

Herbisida DMA6 (2,4-D dimetil amina) merupakan salah satu jenis herbisida yang masuk dalam golongan fenoksi. Dimetil amina juga merupakan herbisida dengan persistensi rendah, namun senyawa ini berpotensi sebagai polutan. Polutan yang masuk ke tanah dan badan air sangat berbahaya bagi lingkungan. Mikrobial memiliki serangkaian enzim yang dapat mengkatalisis senyawa toksik ini. Berdasarkan latar belakang tersebut maka dilakukan penelitian ini untuk menguji beberapa bakteri tanah penghasil enzim dehalogenase diuji ketahanannya dalam menggunakan DMA6 (2,4-D dimetil amina) sebagai sumber karbon serta diuji molekuler untuk diketahui nama spesiesnya.

B. Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah pada penelitian ini yaitu bagaimana hasil uji ketahanan bakteri tanah penghasil enzim dehalogenase terhadap herbisida DMA6 (2,4-D Dimetil Amina) dan Bagaimana hasil uji molekuler bakteri tanah penghasil enzim dehalogenase terhadap herbisida DMA6 (2,4-D Dimetil Amina)?

C. Ruang Lingkup Penelitian

Adapun lingkup pada penelitian ini adalah sampel bakteri penghasil enzim dehalogenase diperoleh dari isolasi sampel tanah sawah sekitar BTN Cita Alam Lestari Kel. Romang Polong, Kec. Somba Opu, Kab. Gowa, dan melakukan uji ketahanan terhadap herbisida DMA6 (dimetil amina) formula.

D. Kajian Pustaka

Beberapa kajian pustaka yang membahas beberapa temuan hasil penelitian sebelumnya untuk melihat kejelasan arah, originalitas dan posisi dari penelitian ini, dibandingkan dengan beberapa temuan penelitian yang dilakukan sebelumnya yaitu sebagai berikut:

1. Penelitian Nurhayati dan Khairul, A (2004) dengan judul Biodegradasi 2-Metil-4-Klor Fenoksi Asetat Formula(KMCPA) oleh Bakteri menunjukkan bahwa terdapat satu isolat diantara 3 isolat yaitu M₁, M₂, M₃ dan M₄ (sebagai kontrol). Ditunjukkan pada substrat KMCPA formula dengan konsentrasi setiap isolat 1,1 g/L, 2,2 g/L dan 3,3 g/L. Didapatkan hasil pada isolat M₃ pada konsentrasi 1,1 g/L memiliki mendegradasi dengan waktu
2. Penelitian Jing, dkk (2008) dengan judul Enzymatic Dehalogenation of 2,2-Dichloropropionic Acid by Locally Isolate *Methylobacterium* sp. HJ1. melakukan penelitian dengan menggunakan isolat bakteri *Methylobacterium* sp. HJ1 dan 7 substrat. terlihat aktivitas enzim terbesar pada substrat 2,2-dichloropropionate yaitu 38 dibandingkan dengan substrat yang lain. *Methylobacterium* sp mampu memanfaatkan asam 2,2-dichloropropionate pada tingkat yang lebih tinggi dari asam alifatik diklorinasi.
3. Penelitian Huyop, dkk (2004) yang berjudul Overexpression and characterization of non-stereospecific haloacid Dehalogenase E (DehE) of *Rhizobium* sp". Dari

penelitian ini untuk melihat aktivitas enzim dehalogenase. Pertumbuhan kondisi dan suhu ekspresi selain yang dinyatakan menunjukkan aktivitas enzim yang lebih rendah terhadap 2,2DCP (Dichloropropane). Menggunakan Kondisi optimal aktivitas enzim terhadap 2,2DCP adalah 1.20 protein molCl / min / mg.

4. Penelitian Huyop dan Cooper (2003) yang berjudul Penggunaan potensial dehalogenase D (Dehd) dari *Rhizobium* Sp. untuk proses industri. dehalogenase tersebut dapat beraksi pada D, L- 2,3-DCP. Analisis menunjukkan bahwa hanya klorida dari satu posisi yang dilepaskan, diduga dari karbon 2 karena dehalogenase dari *Rhizobium* sp. Produk Yang Mungkin Dari Dehalogenasi Diusulkan Menjadi 2-Hidroksi-3-Kloropropionat. Total Klorida Dilepaskan Dengan Menggunakan Enzim Dehl Atau Dehd Juga Menunjukkan Bahwa D, L- 2,3-DCP Memiliki Equimolar L- Atau D- Isomer Mirip Dengan D, L-2-CP.

E. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui hasil uji ketahanan bakteri tanah penghasil enzim dehalogenase terhadap herbisida DMA6 (2,4-D dimetil amina) formula dan untuk mengetahui hasil uji molekuler bakteri tanah penghasil enzim dehalogenase terhadap herbisida DMA6 (2,4-D dimetil amina) formula.

F. Kegunaan Penelitian

Adapun manfaat dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Menambah pengetahuan tentang keanekaragaman bakteri tanah penghasil enzim dehalogenase yang berbeda genus.
2. Memberi sumbangan untuk pengetahuan terhadap biodegradasi mikroorganisme dengan mengetahui jenis spesies setiap bakteri tanah yang mampu mendegradasi senyawa senyawa herbisida.
3. Dengan adanya aktivitas enzim dehalogenase yang dihasilkan oleh bakteri tanah maka dapat dipakai dalam industri untuk mendegradasi limbah senyawa organoklorin secara bioremediasi.
4. Adanya limbah terhalogenasi yang berbahaya dan melimpahnya mikrobia yang memiliki kemampuan untuk mengkatialis proses biodegradasi senyawa terhalogenasi maka dari penelitian ini diharapkan didapatkan mikrobia yang dapat digunakan sebagai agen pembersih tanah dan air yang terkontaminasi komponen aromatik terhalogenasi
5. Menambah pengetahuan tentang bakteri tanah yang menghasilkan enzim dehalogenase mampu menjadikan senyawa-senyawa terhalogenasi sebagai satu satunya sumber karbon untuk proses metabolismenya atau dijadikan makanannya sendiri.

BAB II

TINJAUAN TEORITIS

A. Ayat al-Qur'an yang Relevan

Allah menciptakan alam seisinya sebagai rahmat untuk kemaslahatan umat manusia. Manusia berhak untuk memanfaatkan kekayaan alam semaksimal mungkin dalam rangka untuk meningkatkan kesejahteraan mereka serta sebagai bentuk rasa syukur atas nikmat yang telah diberikan oleh Allah swt. Sebagaimana dalam Firman Allah QS. Al-Baqarah/ 2:29 yang berbunyi:



Terjemahnya:

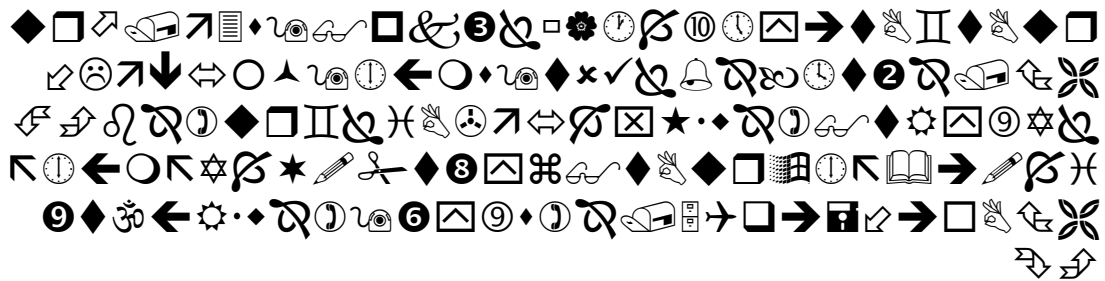
Dia-lah Allah, yang menjadikan segala yang ada di bumi untuk kamu dan Dia berkehendak (menciptakan) langit, lalu dijadikan-Nya tujuh langit. dan Dia Maha mengetahui segala sesuatu (Kementrian Agama RI, 2011).

Menurut Ibnu Katsir dalam tafsirnya (2003), ayat ini menegaskan bahwa Allah swt. telah menganugerahkan karunia yang besar kepada manusia, menciptakan langit dan bumi untuk manusia, untuk diambil manfaatnya, sehingga manusia dapat menjaga kelangsungan hidupnya dan agar manusia berbakti kepada Allah swt. Penciptanya kepada keluarga dan masyarakat. Pada akhir ayat Allah swt.

menyebutkan "Dan Dia Maha Mengetahui segala sesuatu", maksudnya ialah ilmu Allah swt. itu meliputi seluruh apa yang diciptakan-Nya, baik benda itu kecil, maupun besar, nampak atau tidak nampak, semuanya itu diatur, dikuasai dan diketahui oleh Allah swt.

Ayat ini mengisyaratkan keadaan manusia agar menuntut ilmu untuk memikirkan segala macam ciptaan-Nya sehingga dapat menambah iman dan memurnikan ketaatan hanya kepada-Nya saja. Dari ayat tersebut seharusnya kita semua sebagai manusia yang lemah harus sadar. Dialah yang menjadikan segala yang ada di muka bumi ini untuk kita kelolah sebagai sebuah amanah. Hanya Dialah yang berhak menjadikan segala sesuatu sebagai sumber kenikmatan bagi manusia. Allah swt. telah menciptakan alam semesta untuk kepentingan dan kesejahteraan semua makhluk-Nya. Ayat tersebut juga menjelaskan bahwa manusia sebagai makhluk yang diberi kelebihan akal diperintahkan oleh Allah swt. untuk mengkaji dan meneliti apa yang telah diciptakan oleh-Nya, termasuk kajian penelitian untuk mengetahui jenis dari bakteri agar dapat diketahui manfaatnya setiap spesiesnya. Hal ini sangat penting, karena Allah swt. tidak akan menciptakan segala sesuatu dengan sia-sia, semua ada manfaatnya hanya saja manfaat tersebut belum ditemukan oleh publik. Dalam hal ini yaitu bakteri pendegradasi senyawa herbisida sebagaimana dalam firman Allah swt. QS. Al-Hijr/ 15: 19-21 yang berbunyi:





Terjemahnya:

Dan Kami telah menghamparkan bumi dan menjadikan padanya gunung-gunung dan Kami tumbuhkan padanya segala sesuatu menurut ukuran. Dan Kami telah menjadikan untukmu dan (kami menciptakan pula) makhluk-makhluk yang kamu sekali-kali bukan pemberi rezeki kepadanya. Dan tidak ada sesuatupun melainkan pada sisi Kami-lah khazanahnya; dan Kami tidak menurunkannya melainkan dengan ukuran yang tertentu (Kementrian Agama RI, 2011).

Menurut Quraish Shihab dalam tafsirnya (2003), mengatakan bahwa Kami telah menciptakan dan menghamparkan bumi ini untuk kalian sehingga menjadi luas terbentang dengan gunung-gunung yang kokoh. Kami pun menumbuhkembangkan, di bumi ini, aneka ragam tanaman untuk kelangsungan hidup kalian. Dan Kami telah menetapkan tiap-tiap tanaman itu memiliki masa pertumbuhan dan penuaian tertentu, sesuai dengan kuantitas dan kebutuhan kalian. Demikian juga, Kami tetap menentukan bentuknya sesuai dengan penciptaan dan habitatnya. Dan Kami menjadikan di bumi ini berbagai kebutuhan hidup yang baik bagi kalian. Ada bebatuan untuk membangun tempat tinggal, hewan-hewan yang daging, kulit dan bulunya dapat dimanfaatkan, barang-barang tambang yang terdapat di dalam perut bumi, dan sebagainya. Di samping kebutuhan-kebutuhan hidup itu, di bumi ini juga Kami jadikan penghidupan bagi keluarga dan pengikut yang berada di bawah tanggung jawab kalian. Hanya Allahlah yang memberi rezeki kepada mereka,

juga kepada kalian. Segala kebaikan yang ada pada Kami bagaikan khazanah yang penuh, dari segi penyiapan dan pemberian pada waktunya. Tidak ada musibah yang menimpa manusia kecuali sesuai ketentuan yang telah ditetapkan, sejalan dengan hikmah dan kebijaksanaan Kami di alam raya.

Adapun kaitan ayat dengan penelitian ini yaitu pada firman Allah swt. yang menyatakan “*dan Kami tidak menurunkannya melainkan dengan ukuran tertentu*”. Allah swt. memberitahukan bahwa Allah swt adalah pemilik segala sesuatu, segala sesuatu itu sangat mudah bagi-Nya, gudang segala sesuatu dengan segala macamnya itu berada di sisi-Nya. Sebagaimana yang Dia kehendaki dan inginkan, dan itu mengundang hikmah yang besar, dan rahmat bagi hamba-hamba-Nya, bukan merupakan kewajiban, tetapi Allah swt. mewajibkan kepada diri-Nya kasih sayang (rahmat) untuk hamba-hamba-Nya. Dalam hal ini sesuai dengan ukuran tertentu yaitu bakteri. Bakteri adalah makhluk Allah swt. yang tidak dapat dilihat dengan mata sendiri. Namun meskipun ukuran bakteri yang tidak dapat dilihat dengan mata telanjang atau tidak nampak namun beberapa bakteri dapat mendegradasi senyawa senyawa yang susah uraikan oleh tanaman dan hewan. Sebagaimana Allah swt. telah menciptakan bakteri penghasil enzim dehalogenase yang memiliki manfaat dalam mendegradasi senyawa-senyawa yang sulit dicerna oleh tumbuhan hewan dan manusia. Dengan adanya bakteri dehalogenasi dapat membantu proses metabolisme tumbuhan sehingga menghasilkan pertumbuhan yang lebih baik dan berpengaruh terhadap kualitas dari hewan dan juga pada manusia. Sebagaimana Allah telah menciptakan bakteri penghasil enzim dehalogenase yang

memiliki manfaat dalam mendegradasi senyawa-senyawa berbahaya seperti herbisida DMA6 (dimetil amina) formula berpotensi merusak lingkungan yang bersifat racun bukan hanya pada tumbuhan tapi pada hewan dan juga manusia Semua yang Dia ciptakan memiliki faedah yang berguna bagi kesejahteraan manusia.

B. Tinjauan Tentang Isolasi Bakteri

Isolasi bakteri yang baik dan benar dapat menentukan bakteri yang cocok dalam proses remediasi tanah yang diinginkan. Oleh karena itu prinsip pemilihan bakteri hasil isolasi dapat memberikan kinerja penurunan kadar polutan yang optimal (Thompson et al, 2005). Karena secara alami jumlah bakteri yang diinginkan terdapat dalam jumlah sedikit, malah lebih banyak bakteri yang tidak diinginkan, maka diperlukan proses isolasi untuk memperbanyak bakteri yang dimaksud (Barrow et al, 2003). Tujuan dari mengisolasi bakteri adalah untuk mendapatkan bakteri yang diinginkan dengan cara mengambil sampel mikroba dari lingkungan yang ingin diteliti. Dari sampel tersebut kemudian dikultur dengan menggunakan media universal media selektif, tergantung tujuan yang ingin dicapai (Suyasa, 2007).

Isolasi adalah mengambil mikroorganisme yang terdapat di alam dan menumbuhkannya dalam suatu medium buatan. Proses pemisahan atau pemurnian dari mikroorganisme lain perlu dilakukan karena semua pekerjaan mikrobiologis, misalnya telaah dan identifikasi mikroorganisme, memerlukan suatu populasi yang hanya terdiri dari satu macam mikroorganisme saja. Prinsip dari isolasi mikroba adalah memisahkan satu jenis mikroba dengan mikroba lainnya yang berasal dari

campuran bermacam-macam mikroba. Hal ini dapat dilakukan dengan menumbuhkannya dalam media padat sel-sel mikroba akan membentuk suatu koloni sel yang tetap pada tempatnya (Suyasa, 2007).

Isolasi suatu mikrobia ialah memisahkan mikrobia tersebut dari lingkungannya di alam dan menumbuhkannya sebagai biakan murni dalam medium buatan. Isolasi harus diketahui cara-cara menanam dan menumbuhkan mikrobia pada medium biakan serta syarat-syarat lain untuk pertumbuhannya. Memindahkan bakteri dari medium lama kedalam medium yang baru diperlukan ketelitian dan pengsterilan alat-alat yang digunakan, supaya dapat dihindari terjadinya kontaminasi. Pada pemindahan bakteri dicawan petri setelah agar baru, maka cawan petri tersebut harus dibalik, hal ini berfungsi untuk menghindari adanya tetesan air yang mungkin melekat pada dinding tutup cawan petri (Alam dkk. 2013).

Bakteri mudah ditemukan di air, udara dan tanah. Mereka hidup dalam suatu koloni, baik bersimbiosis, bebas ataupun parasit pada makhluk hidup. Jumlah bakteri di alam sangat melimpah dengan keragaman yang sangat tinggi. Untuk mempelajari kehidupan dan keragaman bakteri, diperlukan suatu usaha untuk mengembakbiakkan mereka dalam skala laboratorium. Pengembangbiakan ini dilakukan dengan menumbuhkan bakteri dari sumber isolat, seperti tanah, udara, sisa makanan, dan lain-lain, dalam media yang mengandung nutrisi. Media pertumbuhan bakteri sangat beragam, mulai dari media selektif, media penyubur, dan media diferensial. Dalam mempelajari sifat pertumbuhan dari masing-masing jenis mikroorganisme, maka harus dipisahkan satu dengan yang lainnya, sehingga didapatkan kultur murni yang

disebut isolat. Kultur murni merupakan suatu biakan yang terdiri dari sel-sel dari satu species atau satu galur mikroorganisme. Kultur murni diperoleh dengan cara isolasi menggunakan metode tuang maupun gores (Elfita, 2010).

Kegiatan mikrobiologi pembuatan isolasi dilakukan dengan cara mengambil sampel mikroba dari lingkungan yang ingin diteliti. Dari sampel tersebut kemudian dikultur/dibiakan dengan menggunakan media universal atau media selektif, tergantung tujuan yang ingin dicapai. Untuk mendapatkan atau menumbuhkan jenis mikroorganisme tertentu, maka dilakukan isolasi. Dengan isolasi inilah dapat diidentifikasi jenis bakteri tertentu baik dari kelimpahan maupun morfologinya (Torben, 2007).

Isolasi bakteri merupakan suatu cara untuk memisahkan atau memindahkan mikroba tertentu dari lingkungannya sehingga diperoleh kultur murni atau biakan murni. Kultur murni ialah kultur yang sel-sel mikrobanya berasal dari pembelahan dari satu sel tunggal. Kultur murni atau biakan murni sangat berguna didalam mikrobiologi, yaitu untuk menelaah dan mengidentifikasi mikroorganisme, termasuk penelaahan ciri-ciri cultural, morfologis, fisiologis, maupun serologis, memerlukan suatu populasi yang terdiri dari satu macam mikroorganisme saja. Sebelum mengisolasi, harus diketahui mikroba apa yang akan diisolasi dan habitatnya menentukan sampel dan media apa yang akan digunakan. Pemilihan mikroba sebagai sumber enzim mempunyai beberapa keuntungan bila dibandingkan yang diisolasi dari tanaman ataupun hewan. Antara lain adalah sel mikroba relatif lebih mudah ditumbuhkan, kecepatan pertumbuhan relatif lebih cepat, skala produksi sel lebih

mudah ditingkatkan bila dikehendaki produksi yang lebih besar, biaya produksinya relatif rendah, kondisi selama produksi tidak tergantung oleh adanya pergantian musim dan waktu yang dibutuhkan dalam proses produksi lebih pendek (Torben,2007).

C. Tinjauan Tentang Enzim Dehalogenase

Enzim merupakan katalisator pilihan yang diharapkan dapat mengurangi dampak pencemaran lingkungan dan pemborosan energi karena reaksinya tidak membutuhkan energi, bersifat spesifik dan tidak beracun. Enzim telah dimanfaatkan secara luas pada berbagai industri produk pertanian, kimia dan industri obat-obatan. Tiga sifat utama dari biokatalisator adalah menaikkan kecepatan reaksi, mempunyai kekhususan dalam reaksi dan produk serta kontrol kinetik (Akhdiya, 2003).

Enzim memegang peranan penting dalam proses pencernaan makanan maupun proses metabolisme zat-zat makanan dalam tubuh. Fungsi enzim adalah mengurangi energi aktivasi, yaitu energi yang diperlukan untuk mencapai status transisi (suatu bentuk dengan tingkat energi tertinggi) dalam suatu reaksi kimiawi. Suatu reaksi yang di katalisis oleh enzim mempunyai energi aktivasi yang lebih rendah, dengan demikian membutuhkan lebih sedikit energi untuk berlangsungnya reaksi tersebut. Enzim mempercepat reaksi kimiawi secara spesifik tanpa pembentukan hasil samping dan bekerja pada larutan dengan keadaan suhu dan pH tertentu. Aktivitas enzim dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti konsentrasi enzim, konsentrasi substrat, suhu dan pH (Pelczar dan Chan, 2005).

Pemanfaatan enzim dapat dilakukan secara langsung menggunakan enzim hasil isolasi maupun dengan cara pemanfaatan mikroorganisme yang dapat menghasilkan enzim yang diinginkan (Moon dan Parulekar, 1993).

Senyawa organik terhalogenasi sintetis banyak ditemukan di seluruh biosfer karena penggunaan yang tinggi dalam proses industri dan pertanian moderen. Katabolisme mikroba telah ditinjau. Reaksi katabolisme mikroba, Yang mengkatalisis pembelahan ikatan karbon-halogen dikenal sebagai reaksi dehalogenasi (Huyop dan Cooper, 2003).

Senyawa organik terhalogenasi dihasilkan oleh sintesis kimia dan sangat beracun. Senyawa ini banyak digunakan sebagai *herbisida*, *fungisida* dan *insektisida* di seluruh lingkungan. Investigasi degradasi mikroba senyawa *haloalifatik* dan *haloaromatik* menyebabkan identifikasi berbagai mekanisme *dehalogenase* dan dehalogenasi (Mashitah et al, 2011).

Saat ini, dehalogenase tidak hanya memiliki aplikasi potensial dalam teknologi lingkungan tetapi juga di industri kimia (Permatasari, 2018). Enzim dehalogenase diklasifikasikan menurut spesifisitas substratnya dan mekanisme reaksi putatif (Slater et al, 1995).

Literatur berbagai nama diberikan pada enzim ini, misalnya haloacid dehalogenase (HAD), dehalogenase 2-haloasida, halida 2 haloasid halidohidrolase, asam halida-isoalkanoat dehalogenase dan asam halida-haloalkanoat halidohidrolase (Fetzner dan Lingens, 1994). Oksida hidrolitik haloalkanoat hidrolisat bekerja berdasarkan karbon no. 2 atau α -karbon asam alifatik pendek halogenasi misalnya

kelas isomer khusus spesifik L-isomer spesifik, D-isomer spesifik dan D, L-isomer non-stereo. Sebagian besar dehalogenase yang terkenal adalah protein L-isomer dan sepuluh gen jenis ini diurutkan sejauh ini. Hill et al, (1999) melaporkan bahwa asam α -haloalkanoat (α HA) dapat dikelompokkan menjadi dua, kelompok I α HA dan kelompok II α HA. Sebagian besar L-isomer spesifik berada pada kelompok II α HA.

Beberapa mikroorganisme tanah dapat menghalogenasi berbagai substrat terklorinasi melalui hidrolisis ikatan karbon-halogen alifatik (Hardman, 1991 dalam Slater et al, 1997). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa bakteri tertentu mengandung sejumlah dehalogenase yang berbeda dalam stabilitas termalnya, pH bergantung (Huyop et al, 2009).

Salah satu enzim kunci yang ada di dalam mikroba yang mendegradasi DMA6 (dimetil amina) adalah dehalogenase. Dehalogenase adalah enzim yang memotong ikatan antara karbon dan halogen. Proses pemotongan antara karbon dan halogen disebut dehalogenasi. Dehalogenasi akan menghasilkan ion klorida terlepas dari senyawa organoklorin (Nurhayati dkk, 2004).

Mikroorganisme yang mampu hidup dalam medium yang mengandung organohalida biasanya memiliki enzim dehalogenase. *Pseudomonasaeruginosa* adalah salah satu bakteri yang diketahui dapat hidup di lingkungan yang mengandung senyawa organohalida karena bakteri ini mampu menghasilkan dehalogenase (dHL). Selain itu, bakteri lainnya yang mampu tumbuh menghasilkan dehalogenase adalah *Bradyrhizobium* (Sfetsas dkk, 2009), *Klebsiella* (Tahya dan Ratnaningsih, 2015), *Xantobacter* (Torz dkk, 2005). Dehalogenase sendiri

merupakan enzim yang berfungsi sebagai katalis untuk memutuskan ikatan kovalen antara karbon dan halogen sehingga menghasilkan alkohol, ion halida, dan proton, dimana air dapat membantu menjadi cosubstrat (Sfetsas dkk, 2009).

Enzim yang mengkatalisis reaksi dehalogenasi disebut dehalogenase. Mekanisme pemutusan halogen dari komponen aromatik meliputi berlangsung secara oksidatif, hidrolitik dan reduktif. Mekanisme biodegradasi pestisida oleh mikrobia secara oksidatif yaitu proses terlepasnya halogen dari senyawa aromatik terhalogenasi dengan melibatkan enzim dan oksigen (Nurhayati, 2008).

Dehalogenasi hidrolitik yaitu mekanisme biodegradasi senyawa terhalogenasi dengan melibatkan enzim dan hidrogen sedangkan proses dehalogenasi reduktif adalah proses terlepasnya halogen yang merupakan gugus penentu toksisitas dari senyawa terhalogenasi dengan melibatkan enzim dan proses reaksi reduksi (Nurhayati, 2008).

Pada proses dehalogenase oksidatif gugus halogen digantikan oleh oksigen, halogen dilepas secara spontan setelah cincin aromatik putus, dehalogenase oksidatif seringkali diikuti oleh proses dehalogenasi yang melibatkan aktivitas oksigenase (Commandeur dan Parsons, 1994).

Dehalogenase hidrolitik mengkatalisis lepasnya halogen dari senyawa terhalogenasi dan digantikan dengan air, baik dalam kondisi aerob dan anaerob. Pada proses dehalogenasi reduktif senyawa aromatik terhalogenasi sebagai senyawa utama dalam pestisida dalam keadaan anaerob berfungsi sebagai aseptor elektron terakhir. Mikrobia yang memiliki dehalogenase reduktif adalah *Desulfomonile tiedjei*.

Mekanisme putusnya halogen, khususnya florin dan klorin dari molekul organik mengurangi efek inhibitor dan sumber karbon yang ada dapat digunakan sebagai sumber C alternatif dan energi untuk pertumbuhan (Slater et al, 1995).

Beberapa mikrobia yang memiliki aktivitas dehalogenase hidrolitik adalah *Pseudomonas* sp strain CBS3 (Löffler et al.; 1992)dan *Arthrobacter* sp strain SU Beberapa yang terisolasi. Mikroorganisme memiliki banyak dehalogenase untuk Contoh di *Rhizobium* sp. RC1 dan *Pseudomonas* Putida PP3 menunjukkan kompleksitas control dari regulasi gen dehalogenase.

D. Tinjauan Umum Tentang Herbisida DMA6 (2,4-D Dimetil Amina) Formula

Herbisida adalah senyawa kimia atau kultur biologi organisme yang digunakan untuk mematikan atau menghambat pertumbuhan gulma (Anderson, 2007). Sedangkan menurut Soerjandono (2005), herbisida berasal dari senyawa kimia organik maupun anorganik atau berasal dari metabolit hasil ekstraksi dari suatu organisme. Herbisida bersifat racun terhadap gulma atau tumbuhan pengganggu, juga terhadap tanaman. Herbisida yang diaplikasikan dengan dosis tinggi akan mematikan seluruh bagian tumbuhan. Namun pada dosis yang lebih rendah, herbisida akan membunuh tumbuhan tertentu dan tidak merusak tumbuhan yang lainnya.

Herbisida semakin meningkat setiap tahun seiring dengan usaha peningkatan produksi pertanian. Menurut Tjitrosoedirdjo et al (1984), kontak antara partikel tanah dan molekul herbisida dapat terjadi dengan beberapa cara, seperti adsorpsi,

pencucian, volatilisasi dan degradasi herbisida didalam tanah. Adsorpsi merupakan penarikan molekul herbisida ke arah permukaan partikel tanah. Adsorpsi merupakan salah satu mekanisme yang paling penting yang mengurangi konsentrasi larutan herbisida dalam tanah dan beberapa herbisida yang lolos terserap (Zimdahl, 2007). Absorpsi ini mampu menurunkan konsentrasi senyawa herbisida didalam larutan tanah sehingga menghalangi mobilitas senyawa tersebut menuju sistem perairan. Senyawa herbisida yang terabsorpsi bersifat pasif, tidak tersedia untuk proses fisik, kimia, maupun biologi sampai terjadinya desorpsi. Bahan organik tanah diketahui sebagai komponen tanah yang mempunyai peranan sangat penting dalam proses absorpsi dan desorpsi herbisida di dalam tanah dan lingkungan (Herbicide Manual, 2005).

Herbisida yang digunakan secara terus menerus akan menyebabkan persistensi, gulma yang awalnya peka terhadap herbisida tersebut lama kelamaan akan menjadi toleran. Persistensi adalah lamanya aktivitas biologi herbisida dalam tanah yang merupakan akibat dari penyerapan, volatilisasi, pencucian, dan degradasi biologi ataupun nonbiologi. Pada umumnya persistensi herbisida di dalam tanah lebih pendek daripada insektisida dan bervariasi dari beberapa minggu hingga beberapa tahun, bergantung pada struktur dan sifat tanah serta kandungan air dalam tanah. Herbisida persistensi rendah menandakan lamanya aktivitas biologi herbisida dalam tanah termasuk rendah. Dengan demikian, 13 herbisida yang terserap tanaman jagung juga rendah sehingga hasil jagung aman dikonsumsi (Riadi, 2011).

Herbisida bersifat racun terhadap gulma atau tumbuhan pengganggu juga terhadap tanaman. Sifat kimia herbisida tidak hanya menentukan daya kerja herbisida pada gulma yang dikendalikan (efikasi), tetapi juga menentukan tingkat keracunan (toksisitas) pada organisme nontarget misalnya tanamannya (Sembodo, 2010).

Herbisida dapat mempengaruhi satu atau beberapa proses yang sangat diperlukan tumbuhan untuk mempertahankan kelangsungan hidupnya. Beberapa proses yang dapat dipengaruhi oleh herbisida yaitu proses pembelahan sel, perkembangan jaringan, pembentukan klorofil, fotosintesis, respirasi, metabolisme nitrogen dan aktivitas enzim (Sembodo, 2010).

Berdasarkan selektivitasnya herbisida dibagi menjadi 2 yaitu, selektif dan nonselektif. Herbisida selektif memiliki spektrum pengendalian yang sempit, sedangkan herbisida nonselektif mempunyai spektrum pengendalian yang luas. Saat ini, banyak petani yang menggabungkan herbisida untuk memperluas spektrum pengendalian gulma (Djojsumarto, 2000 dalam Tampubolon 2009).

Menurut Sukmana (2000), herbisida menurut waktu aplikasinya dibedakan menjadi preplant yakni herbisida diaplikasikan saat tanaman belum ditanam, preemergence yakni herbisida diaplikasikan sebelum biji gulma berkecambah dan postemergence, yakni herbisida diaplikasikan saat gulma dan tanaman sudah lewat stadia perkecambahan. Herbisida ada yang bersifat kontak dengan merusak bagian gulma yang terkena herbisida dan sistemik yang merusak gulma setelah ditraslokasikan ke dalam tubuh gulma.

Herbisida Sistemik adalah herbisida yang dialirkan dari tempat terjadinya kontak pertama dengan herbisida ke bagian lainnya, biasanya akan menuju pada titik tumbuh karena pada bagian tersebut metabolisme tumbuhan paling aktif berlangsung. Herbisida jenis ini dapat diaplikasikan melalui tajuk maupun melalui tanah. Contoh herbisida yang melalui tajuk yaitu herbisida *glifosat*, *sulfosat* dan *ester*. Contoh herbisida yang melalui tanah yaitu herbisida *ametrin*, *atrazin*, *metribuzin* dan *diuron* (Sembodo, 2010).

Berdasarkan mekanisme kerjanya, herbisida dibedakan atas dua golongan yaitu kontak dan sistemik. Herbisida kontak dapat mengendalikan gulma secara kontak langsung pada bagian yang terkena herbisida. Herbisida ini tidak dialirkan ke dalam tubuh gulma. berbeda dengan herbisida sistemik, herbisida ini dialirkan atau ditranslokasikan dari tempat terjadinya kontak pertama dengan herbisida ke bagian lainnya, biasanya akan menuju titik tumbuh karena pada bagian tersebut metabolisme tumbuhan paling aktif berlangsung contoh dari herbisida sistemik adalah DMA6 (2,4-D dimetil amina) (Sembodo, 2010).

Senyawa organoklorin merupakan bahan yang digunakan untuk berbagai keperluan, yaitu sebagai pelarut, pembersih, senyawa kimia untuk industri, pestisida, dan bahan pengawet kayu. Senyawa organoklorin mempunyai potensi sebagai pencemar lingkungan karena senyawa itu bersifat rekalsitran (sulit terdegradasi). Senyawa organoklorin yang rekalsitran masuk ke lingkungan melalui berbagai cara dapat menimbulkan masalah lingkungan, karena substituen klor pada atom C menyebabkan senyawa itu tahan terhadap lingkungan (Nurhayati dkk, 2004).

Dimetil amina, merupakan herbisida dengan persistensi rendah. Menurut (Jatmiko et al, 2002). Persistensi adalah lamanya aktivitas biologi herbisida dalam tanah yang merupakan akibat dari penyerapan, volatilisasi, pencucian, dan degradasi biologi ataupun nonbiologi. Pada umumnya persistensi herbisida di dalam tanah lebih pendek daripada insektisida dan bervariasi dari beberapa minggu hingga beberapa tahun, bergantung pada struktur dan sifat tanah serta kandungan air di dalam tanah. Herbisida persistensi rendah menandakan lamanya aktivitas biologi herbisida dalam tanah termasuk rendah (Soerjandono, 2005).

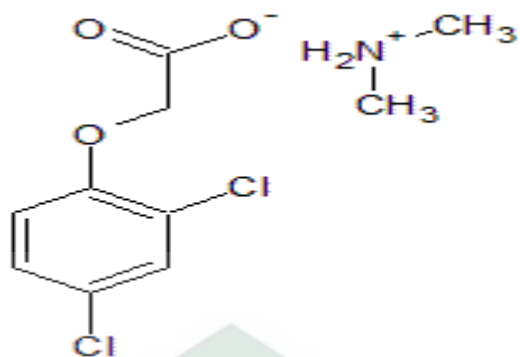
Herbisida 2,4 D dimetil amina merupakan golongan fenoksi sedangkan herbisida dari golongan isoksazolidin yaitu clomazon. 2,4 D dimetil amina, Kalium MCPA dan clomazon, merupakan herbisida dengan persistensi rendah (Soerjandono, 2005).

Senyawa 2,4-D dimethyl amina memiliki kandungan dalam herbisida yaitu 60.6%, air 39.4%. 2,4 D – dimethyl amina adalah bahan aktif dari herbisida jenis selektif purna tumbuh yang umumnya dipakai untuk masalah gulma. Herbisida selektif ini membasmi gulma dan tidak mempengaruhi pertumbuhan tanaman umumnya membasmi gulma berdaun lebar dan teki. Bahan aktif ini umumnya digunakan pada gulma karet, teh, tebu, padi, kelapa sawit (Sukmana, 2012).

Herbisida 2,4-D diformulasikan dalam garam dimetil amin yang banyak digunakan untuk pengendalian gulma berdaun lebar. Golongan ini ditemukan pada tahun 1940-an. Senyawa ini ada dua jenis dalam bentuk garam atau ester. Akar

gulma akan menyerap 2,4-D (garam) sementara daun menyerap 2,4-D (ester). Daun yang terkena semprotan 2,4-D dapat menyerap dalam waktu 4-6 jam sekiranya tidak ada hujan selama penyemprotan. Senyawa dalam bentuk ester sukar dicuci dari permukaan daun karena senyawa ini akan diubah dalam bentuk asamnya oleh gulma. Senyawa 2,4-D yang diserap daun akan diangkut melalui proses transpirasi. Penimbunan dari senyawa ini akan berada dibagian meristem ujung dan akar (Sukmana, 2012).

Sifat fisik dan kimia dari bahan aktif 2,4 D dimetil amina antara lain: berwarna coklat pekat dengan bau menyengat. Sampel ini kenal dengan nama dagang DMA6, diproduksi oleh PT. Dow Agro Science, Jakarta Selatan dan terdapat 68 pabrik pestisida di Indonesia memproduksi senyawa jenis ini (Direktorat Pupuk Dan Pestisida Kementrian Pertanian Republik Indonesia, 2011). Kandungan : 2,4-D dimetil amina 865 gr/L setara: 720g/L 2,4- D. Dengan Rumus kimia: $C_8H_6C_{12}O_3 \cdot C_2H_7N$ dan berat molekul: 266.5 g/mol. Bahan ini larut dalam pelarut air karena di buat dalam bentuk garamnya berada pada pH 7-9. Informasi sifat toxic diantaranya: Oral: LD50=1260 mg/k, kulit dan mata: LD50 >2000 mg/kg dan pernafasan LC50 (24 jam) >1.5 mg/l. Sedangkan pengaruh terhadap ekosistem lingkungan, berpotensi bersifat sebagai limbah organik perairan yang merusak beberapa organisme perairan dengan LC50 (48jam), EC50 = 100 mg/l dan pada beberapa mikroorganisme tertentu seperti *Selenastrum capricornutum* 33.2 mg/l (MSDS & National Pesticides Information Center) (Sukmana, 2012).



Gambar senyawa herbisida 2,4-D dimetil amina

Bahan aktif ini cenderung aman digunakan untuk usaha pengendalian gulma pada lahan pertanian karena mampu terdegradasi oleh tanah dalam waktu 14-29 hari dan mudah terlarut dalam air namun tidak terdegradasi oleh akar tumbuhan. Prinsip kerja senyawa ini menghambat pertumbuhan gulma daun lebar secara sistemik 5 selektif terserap ke dalam sistem fisiologi tumbuhan dan mudah di transportasikan melalui xilem maupun floem (Sukmana, 2012).

Hasil penelitian diketahui bahwa herbisida 2,4-diklorofenoksiasetat (2,4-D) dapat segera terdegradasi di tanah, sementara 2,4,5- Trikloroasam asetat (2,4,5-T) dan 4-klor-2- metilfenoksi asetat (MCPA) lebih perisiten atau tahan. Degradasi MCPA oleh bakteri di dalam tanah telah diteliti oleh berbagai peneliti dengan mengamati kemampuan melepas klorida dari substitusi klorida pada substrat utama senyawa organoklorin baik dari pestisida, fungisida dan hervbisida (Loos, 1975). *Pseudomonas* sp. merupakan salah satu bakteri yang dapat menggunakan MCPA sebagai sumber karbon satusatunya (Evans et al, 1971), mikrobia lain yang dapat

menggunakan herbisida MCPA sebagai sumber karbon untuk pertumbuhannya adalah *Alcaligenes*, *Azotobacter*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Xanthobacter* dan *Flavobacterium* (Balajee & Mahadevan, 1990).

Biodegradasi senyawa herbisida oleh mikrobia diawali dengan pemutusan secara oksidatif ikatan eter menghasilkan fenol. Reaksi berikutnya adalah terjadinya hidrolisasi katekol diikuti dengan pemutusan cincin secara ortho pada isolat *Alcaligenes eutrophus* JMP 134. Beberapa strain mikrobia memiliki plasmid yang memiliki gen mengkode berbagai macam enzim yang dapat mendegradasi senyawa herbisida, yang merupakan mikrobia dengan plasmid “broad range” dan dapat ditransfer secara bebas antar mikroorganisme di dalam tanah (Don, & Pemberton, 1981). Dari berbagai penelitian diketahui bahwa mikrobia memiliki serangkaian enzim kunci dari yang memiliki organisasi dan regulasi gen yang dapat mendegradasi haloaromatik.

E. *Tinjauan Tentang Identifikasi Molekuler Melalui Amplifikasi Gen 16S-rRNA*

Identifikasi atau untuk mengetahui suatu bakteri dapat dilakukan dengan menggunakan analisis fenotipik yaitu mempelajari sifat fisiologis atau biokimianya (Hadioetomo, 1993) maupun analisis genotipik secara molekuler. Seringkali hasil uji biokimia atau fisiologi tersebut berbeda karena perbedaan ekspresi gen. untuk karakterisasi galur-galur dalam satu spesies perlu dilihat sifat yang paling mendasar dan relatif stabil yang analitik genotipik (Singleton, 1995). Beberapa tujuan identifikasi dengan menggunakan karakter fenotip sebagian besar dapat terpenuhi,

namun terdapat juga beberapa keterbatasan dalam mengidentifikasi bakteri secara fenotipik. Seperti adanya bakteri yang pertumbuhannya menyulitkan (tidak dapat dikulturkan), banyaknya variasi morfologi, rekasi biokimia yang berubah-ubah dan belum adanya pengenalan (rekognisi) karakter sebelumnya (Han *et al.*, 2002). Kemajuan teknologi telah mengatasi keterbatasan ini, salah satunya yang diwujudkan yaitu identifikasi dengan cara menganalisis urutan nukleotida 16S ribosomal RNA (16S rRNA) yang muncul sebagai metode identifikasi yang akurat dalam mengidentifikasi bakteri (Drancourt *et al.*, 2000)

Beberapa alasan dalam melakukan identifikasi menggunakan molekul dengan kode 16S rRNA yaitu: (1) bersifat universal pada kelompok organisme prokariotik; (2) urutan nukleotidanya bersifat konservatif dan variatif; (3) jumlahnya melimpah dalam sel; (4) memenuhi ukuran untuk perhitungan statistika (tidak terlalu panjang dan tidak terlalu pendek); (5) ketersediaan informasi (data bank/database di GenBank) (Madigan *et al.*, 2008). Molekul 16S rRNA memiliki beberapa daerah yang memiliki urutan basa yang relatif konservatif dan beberapa daerah urutan basanya variatif. Perbandingan urutan basa yang konservatif berguna untuk mengkonstruksikan pohon filogenetik universal karena mengalami perubahan relatif lambat dan mencerminkan kronologi evolusi bumi. Sebaliknya, urutan basa yang variatif dapat digunakan untuk melacak keragaman dan menempatkan galur-galur dalam satu spesies (Pangastuti, 2006).

Bakteri diklasifikasikan terutama berdasarkan sifat-sifat fenotipik. Akan tetapi hasilnya tidak selalu dapat diandalkan secara filogeni. Metode molekuler

terutama klasifikasi dan identifikasi berbasis filogenetik, menggunakan parameter yang tidak bergantung pada kondisi pertumbuhan media yang digunakan. Pendekatan yang umum digunakan saat ini adalah analisis sekuen gen 16S rRNA (Case *et al.*, 2007).

F. Tinjauan Tentang PCR (*Polymerase Chain Reaction*)

Rekasi polimer berantai atau PCR adalah suatu proses perbanyakan DNA secara in vitro enzimatik dengan pengontrolan suhu (Weising *et al.*, 2005) sedangkan menurut (Yuwono, 2006) PCR adalah suatu metode enzimatik untuk melipatgandakan secara eksponensial suatu sekuen nukleotida tertentu atau DNA dengan cara in vitro.

PCR adalah teknik cepat untuk mengamplifikasikan fragmen DNA spesifik secara in vitro dengan menggunakan sepasang primer untai tunggal pendek (primer *forward* dan *reverse*). Sejumlah kecil fragmen DNA (*Deoxyribonucleic Acid*) yang diinginkan dapat diamplifikasi secara berulang-ulang sampai jutaan kali dalam beberapa jam menggunakan teknik ini.

Enzim DNA polimerase yang digunakan dalam tahap ekstensi adalah TaqDNA polimerase. Enzim ini diisolasi dari bakteri *Thermus aquaticus* BM (Taq) dan kemudian dikembangkan pada tahun 1988. *Thermus aquaticus* BM merupakan strain yang tidak memiliki endonuklease restriksi Taq (Yuwono, 2008). Taq DNA polimerase terdiri dari satu rantai polipeptida yang memiliki berat molekul kurang lebih 95 kD. Enzim ini memiliki kemampuan polimerisasi DNA yang sangat tinggi

namun tidak memiliki aktivitas eksonuklease 3' ke 5'. Taq polimerase paling aktif pada pH 9-10. Enzim Taq DNA polimerase mampu tahan sampai suhu mendidih 100°C dan memiliki aktivitas optimal yaitu dapat berlangsung pada suhu 92-95°C. Seperti halnya pada replikasi DNA, enzim DNA polimerase mensintesis DNA dengan arah dari ujung 5' ke ujung 3' (Watson, 2004).

Proses PCR merupakan metode yang sensitif, selektif, dan cepat dalam menggandakan DNA target yang diinginkan (Murray *et al.*, 2003), sehingga dari satu pasang molekul DNA dapat diperbanyak menjadi jutaan kali lipat setelah 30-40 siklus PCR (Campbell *et al.*, 2002). Dalam prosesnya PCR dapat secara cepat mengubah temperatur yang dibutuhkan untuk siklus berulang. Beberapa komponen penting yang dibutuhkan dalam proses PCR yaitu DNA target (DNA cetakan yang akan diamplifikasi), sepasang primer oligonukleotida (primer *forward* dan *reverse*), enzim Taq DNA polimerase yang tahan panas, *deoxynucleoside triphosphate* (dNTP) serta larutan penyangga (*buffer*) (Muladno, 2002).

PCR juga merupakan suatu reaksi *in vitro* untuk menggandakan jumlah molekul DNA pada target tertentu dengan cara mensintesis DNA baru yang berkomplemen dengan molekul DNA target dengan bantuan enzim polimerase dan oligonukleotida sebagai primer dalam suatu termocycler. Primer yang berada sebelum daerah target disebut primer *forward* dan yang berada setelah daerah target disebut primer *reverse*. Primer umumnya mempunyai panjang 9 sampai 25 basa dan menentukan situs dimulainya replikasi DNA (Stansfield *et al.*, 2006). Teknik PCR digunakan untuk memperbanyak sekuens DNA tertentu dengan waktu relatif singkat.

Dengan PCR, molekul DNA dapat diperbanyak sampai jutaan kopi. Oleh karena itu teknik ini bisa disebut amplifikasi DNA (Muladno, 2002).

Ada tiga langkah utama yang terlibat di dalam teknik PCR yaitu denaturasi, annealing, dan ekstensi. Pada langkah pertama yaitu DNA didenaturasi pada suhu tinggi (dari 90°– 97° Celcius). Langkah kedua, primer anneal template DNA untai ke ekstensi utama. Langkah ketiga, ekstensi terjadi di akhir primer anil untuk membuat untaian salinan DNA komplementer. Ini secara efektif menggandakan jumlah DNA melalui ketiga langkah dalam siklus PCR. Untuk memperkuat segmen DNA menggunakan PCR, sampel pertama dipanaskan sehingga DNA denaturasi, atau memisahkan menjadi dua bagian DNA beruntai tunggal. Selanjutnya, enzim disebut "Taq polimerase" mensintesis - membangun - dua untai DNA baru, menggunakan untaian asli sebagai templat. Ini hasil proses dalam duplikasi dari DNA asli, dengan masing-masing baru molekul yang mengandung satu yang lama dan yang baru untaian DNA. Kemudian masing-masing helai ini dapat digunakan untuk membuat dua salinan baru, dan seterusnya, dan seterusnya. Tujuh Fase annealing terjadi pada suhu yang lebih rendah, 50-60° C. Ini memungkinkan primer untuk hibridisasi template pelengkap masing-masing helai, alat yang sangat berguna untuk forensik kimia. Untaian DNA yang baru terbentuk dari primer yang melekat pada template kemudian digunakan untuk membuat salinan identik dari aslinya untaian template yang diinginkan. Taq polymerase menambahkan nukleotida yang tersedia hingga akhir primer anil. Perpanjangan dari primer oleh Taq polimerase terjadi pada kira-kira 72°C selama 2-5 menit. DNA polimerase I tidak dapat digunakan untuk

memanjang primer seperti yang diharapkan karena tidak stabil pada suhu tinggi diperlukan untuk PCR. Keindahan PCR siklus dan proses adalah sangat cepat dibandingkan dengan teknik lain dan masing-masing siklus menggandakan jumlah salinan dari untai DNA yang diinginkan. Setelah 25-30 siklus, siapa pun yang melakukan proses PCR pada sampel DNA akan memiliki banyak salinan sampel DNA asli untuk melakukan eksperimen. Dengan asumsi jumlah waktu maksimum untuk setiap langkah, 30 siklus hanya akan memakan waktu 6 jam. Seperti proses denaturasi, annealing, dan ekstensi polimerase dilanjutkan primer berulang kali mengikat keduanya template DNA asli dan situs pelengkap dalam yang baru untai yang disintesis dan diperluas ke menghasilkan salinan DNA baru. Tamat Hasilnya adalah peningkatan eksponensial dalam jumlah total fragmen DNA itu termasuk urutan antara PCR primer, yang akhirnya diwakili pada kelimpahan teoritis 2^n , di mana n , adalah jumlah siklus.^{5, 8} Karena pengenalan termostabil DNA polimerase, DNA Taq polimerase sekali, pada permulaan Reaksi PCR.⁹ Termotabil sifat-sifat polimerase DNA aktivitas diisolasi dari *Thermus aquaticus* (Taq) yang tumbuh di geysir dari lebih dari 110°C , dan telah berkontribusi besar untuk hasil, kekhususan, otomatisasi, dan utilitas reaksi rantai polimerase. Enzim Taq dapat bertahan berulang pemanasan hingga 94°C dan begitu setiap kali campuran didinginkan untuk memungkinkan primer oligonukleotida untuk mengikat katalis untuk ekstensi sudah present.¹⁰ Setelah siklus terakhir, sampel adalah biasanya diinkubasi pada 72°C selama 5 menit isi ujung yang menonjol baru produk PCR yang disintesis. Untuk memastikan sukses, harus diperhatikan baik dalam menyiapkan campuran reaksi dan

pengaturan kondisi bersepeda. Meningkatkan jumlah siklus di atas 35 memiliki sedikit positif efek karena dataran tinggi terjadi ketika reagen habis; mengumpulkan. Itu spesifisitas amplifikasi tergantung pada sejauh mana primer bias mengenali dan mengikat ke urutan lainnya dari target DNA target yang dimaksud (Joshi, 2010).

Tujuan dari PCR adalah untuk membuat sejumlah besar duplikasi suatu gen. hal ini diperlukan agar diperoleh jumlah DNA cetakan awal yang cukup untuk sekuensing DNA ataupun untuk memperoleh material genetik yang diperlukan dalam proses rekayasa genetika. Tahapan pengerjaan PCR secara umum terdiri dari isolasi DNA/RNA, pengecekan integritas isolat DNA/RNA secara spektrofotometri atau elektroforesis, pencampuran komponen fraksi PCR, pemrograman mesin PCR pada kondisi optimum, amplifikasi reaksi dan deteksi/evaluasi hasil reaksi (Sari, 2006). Cara kerja PCR dimulai dari pengikatan dua oligonukleotida (primer) yang telah diketahui komposisinya ke suatu sekuens target yang diinginkan. Kemudian, DNA polimerase akan memperpanjang oligonukleotida tersebut. Setiap reaksi akan diulang setelah tahap denaturasi sehingga terjadilah amplifikasi (penguatan) secara eksponensial (Stansfield, 2006).

G. Tinjauan Tentang Elektroforesis Gel Agarose

Suatu teknik pemisahan molekul seluler berdasarkan atas ukurannya, dengan menggunakan medan listrik yang dialirkan pada suatu medium yang mengandung sampel yang akan dipisahkan yaitu elektroforesis (Yuwono, 2005). Teknik elektroforesis selalu memiliki dua komponen utama, yaitu medium penyangga

(kertas atau gel) dan larutan buffer. Fungsi medium penyangga adalah sebagai reseptor titik dari senyawa-senyawa yang akan dipisahkan dan menyediakan jalur bagi migrasi komponen. Sedangkan fungsi buffer sebagai konduktor arus yaitu jembatan konduksi di antara dua elektroda, sehingga memungkinkan terjadinya aliran medan listrik dan menstabilkan pH (Sari, 2006).

Produk PCR adalah ampikon (segmen DNA) yang berada dalam jumlah jutaan copy, tetapi tidak dapat dilihat dengan mata telanjang. Oleh karena itu, perlu adanya visualisasi produk PCR yaitu dengan cara elektroforesis gel agarosa. Selain untuk mendeteksi, elektroforesis gel agarosa juga bertujuan untuk mengetahui ukuran ampikon dan mengetahui kesesuaian ampikon dengan yang diinginkan (Gaffar, 2007 dalam Arham, 2015).

Untuk mengetahui keberadaan dan membedakan jenis asam nukleat yang didapat dari hasil ekstraksi dan menganalisis produk hasil pemotongan dengan enzim restriksi menggunakan gel agarosa. Prinsip dasar elektroforesis adalah berdasarkan laju perpindahan suatu molekul oleh gaya gerak listrik di dalam matriks gel. Laju perpindahan tersebut bergantung pada ukuran molekulnya, semakin kecil molekulnya akan semakin cepat lajunya, begitu pula sebaliknya. Sample molekul ditempatkan ke dalam sumur pada gel yang berada di dalam larutan penyangga dan dialirkan listrik pada tegangan tertentu. Molekul-molekul sampel akan bergerak di dalam matriks gel ke arah salah satu kutub listrik sesuai muatannya. Arah pergerakan untuk RNA dan DNA adalah menuju elektroda positif karena adanya muatan negatif pada rangka gula-fosfat yang dimilikinya (Berg *et al.*, 2007).

Kecepatan migrasi DNA ditentukan oleh beberapa faktor yaitu ukuran molekul DNA, konsentrasi agarosa, konformasi DNA, voltase yang digunakan, adanya ethidium bromida di dalam gel dan komposisi larutan buffer. Di dalam proses elektroforesis komponen bahan kimia terpenting yang digunakan dalam proses tersebut adalah gel. Elektroforesis DNA akan lebih baik menggunakan medium penyangga berupa gel buatan seperti poliakrilamida atau agarosa. Agarosa bersifat tidak toksik, kompleks berupa bubuk yang terdiri atas campuran dua unit dasar alaktosa, agarosa dan agaropketin. Gel agarosa lebih mudah dalam preparasinya daripada poliakrilamida. Konsentrasi gel agarosa yang digunakan dalam elektroforesis bervariasi antara 0,5%-2%. Biasanya gel agarosa dengan konsentrasi 0,8%-1% sangat baik dalam memisahkan fragmen DNA berukuran 1-20.000 pasang basa. Gel agarosa dengan konsentrasi kurang dari 0,5% sangat rapuh dan sulit ditangani (Sari, 2006).

H. Tinjauan Tentang Sekuensing

Metode sekuensing merupakan salah satu terobosan utama dalam genetika biologi molekuler yang dapat mensekuensing potongan DNA secara cepat (Muladno, 2002). DNA menyimpan informasi genetik dalam bentuk urutan nukleotida. DNA *sequencing* adalah penentuan sekuens nukleotida dalam molekul DNA (Novel *et al.*, 2010). DNA target yang telah diamplifikasi dengan bantuan PCR akan disekuensing sehingga urutan basa nukleotida yang dikode akan diketahui, yang nantinya dapat dijadikan bahan untuk identifikasi spesies suatu bakteri.

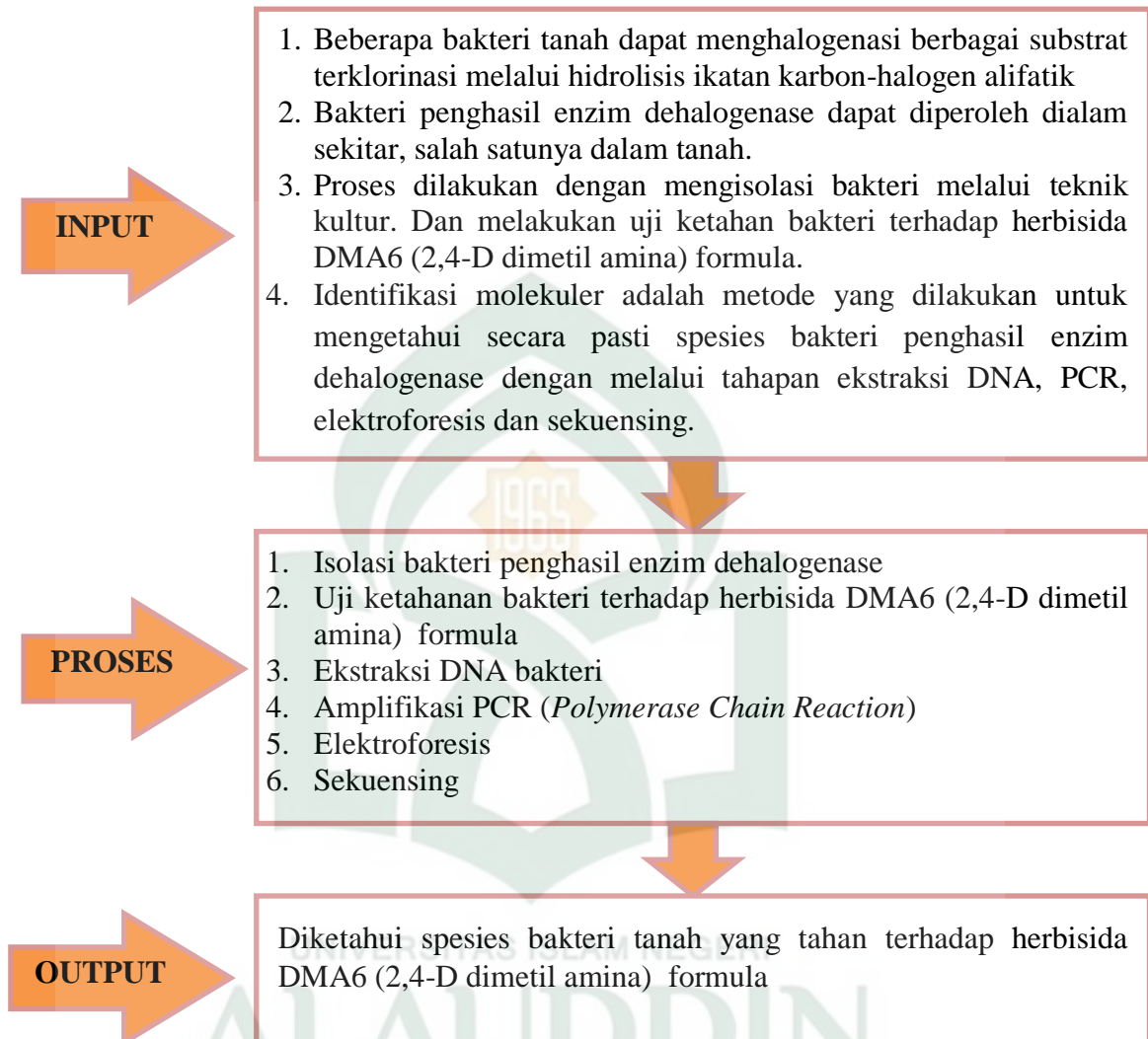
Ada dua macam metode sekuensing yang telah dikembangkan, yaitu metode *Maxam-Gilbert* dan metode *Sanger* yang keduanya diperkenalkan pada tahun 1977. Kedua metode tersebut mempunyai prinsip kerja yang berbeda, namun sama-sama menghasilkan suatu kumpulan besar DNA yang dimulai pada suatu titik dan berakhir pada titik lainnya (Novel *et al.*, 2010). Metode sekuensing yang paling banyak digunakan adalah metode *Sanger*. Selain lebih mudah, praktis dan efisien, metode *Sanger* juga sudah banyak digunakan dan jutaan nukleotida dari berbagai spesies telah berhasil disekuensing dengan metode ini (Muladno, 2002).

Pada metode *Sanger* dikenal dengan metode terminasi rantai dan metode *Maxam-Gilbert* dikenal dengan metode degradasi kimia (Brown, 2002 dalam Arham, 2015). Metode *Maxam-Gilbert* melibatkan degradasi kimia terhadap fragmen DNA yang akan disekuensing. Mula-mula molekul DNA rantai ganda yang akan disekuensing diberi label salah satu ujungnya menggunakan fosfat radioaktif, fragmen DNA yang sudah diberi label pada salah satu ujungnya dipotong tak sempurna (partial digest) dalam empat reaksi kimia terpisah. Tiap reaksi membuat fragmen DNA tersebut terpotong pada basa tertentu. Ini menghasilkan empat macam populasi fragmen DNA yang semua ujungnya berlabel. Tiap populasi terdiri atas campuran fragmen DNA yang panjangnya ditentukan oleh lokasi basa tertentu disepanjang fragmen DNA yang disekuensing tersebut. Populasi fragmen DNA tersebut dipisahkan dengan cara elektroforesis melalui gel polyacrilamida dan fragmen DNA yang berlabel pada ujungnya tersebut akan terdeteksi melalui cara autodiografi (Muladno, 2002). Metode degradasi kimia (*Maxam-Gilbert*) memiliki kelemahan

yaitu menggunakan bahan kimia yang beracun dan berbahaya bagi kesehatan peneliti, sehingga hal ini merupakan alasan mengapa saat ini penentuan urutan basa nukleotida (sekuensing) lebih banyak yang menggunakan metode *Sanger*.



I. Kerangka Pikir



BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Jenis dan Pendekatan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian kualitatif deskriptif. Penelitian ini menggunakan pendekatan eksploratif yaitu untuk mengetahui bakteri tanah panghasil enzim dehalogenase yang dapat bertahan pada herbisida DMA6 (2,4-D dimetil amina) formula.

B. Waktu dan Lokasi penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli - Oktober 2018 dan lokasi penelitian dilakukan pada Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Alauddin Makassar dan Laboratorium Biologi Molekuler Rumah Sakit Pendidikan (RSP) Universitas Hasanuddin.

C. Populasi dan Sampel

Populasi dalam penelitian ini adalah bakteri tanah yang diperoleh dari tanah sawah sekitar BTN Cita Alam Lestari Kel. Romang Polong, Kec. Somba Opu, Kab. Gowa.

D. Variabel Penelitian

Penelitian ini menggunakan variabel tunggal yaitu hasil isolat bakteri penghasil enzim dehalogenasi terhadap herbisida DMA6 (2,4-D dimetil amina) formula dengan pertumbuhan bakteri tertinggi.

E. Definisi Operasional Variabel

Adapun definisi operasional variabel pada penelitian ini adalah isolasi bakteri dehalogenasi melalui teknik kultur diperkaya menggunakan medium DMA6 (2,4-D dimetil amina) formula sebagai sumber karbon.

F. Metode Pengumpulan Data

Pada penelitian ini, pengumpulan data dilakukan dengan cara observasi (pengamatan) dan tes uji untuk melihat kemampuan bakteri terhadap herbisida DMA6 (2,4-D dimetil amina) formula.

G. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah cawan petri, tabung reaksi, rak tabung reaksi jarum ose, inkubator *shaker*, *Laminar Air Flow* (LAF), *vortex*, sarung tangan, masker, Bunsen, pengaduk, *Erlenmeyer* mikropipet (20 μ l, 200 μ l dan 1000 μ l) dan tip (20 μ l, 200 μ l dan 1000 μ l), timbangan analitik, gelas kimia, gelas baker, gelas selai, sendok lemari

pendingin, tabung microsentrifuge, tabung PCR, GD column (spin column), centrifuge MPW-260R, alat PCR (DNA *thermal cycler*), alat elektroforesis DNA horizontal, *Gel Doc*, komputer, DNA *sequencer*, *waterbath*,

2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah herbisida DMA6 (2,4-D Dimetil Amina) Formula, medium cair basal garam SBS (*SolutionBaseSalt*) yang mengandung (g/l): 1,5- K_2HPO_4 (*Kalium fosfat*); 1,0- KH_2PO_4 (*Kalium fosfat*); 0,5- $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (*ammonium sulfat*); 0,2- $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (*magnesium sulfat heptahidrat*) dan mineral ditambah 10 mL mengandung (g/L) : 12- $\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; 2- NaOH ; 0,4- $\text{ZnSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (*Seng sulfat dihidrat*); 1- CuSO_4 (*Tembaga Sulfat*); 10- Na_2SO_4 (*Natrium Sulfat*); 2- $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (*Besi Sulfat Heptahidrat*); 0,1- $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (*Natrium Molibdat Dihidrat*), 0,5 mL H_2SO_4 (*Asam Sulfat*) pekat, *yeast extract* 0,05% , *Aluminiumfoil*, Plastik wrap, plastik buah, tissue, kapas, *aquadest* dan, *Nutrient agar*, Agar, label, BTB (*Bromthymolblue*), *colorimeter*, *chlorine test*, *handscoon*, *masker*, H_2O_2 , *tube*, *etanol* 96%, *gen 16S-rRNA*, *Presto TM Buccal Swab gDNA Extraction Kit (100 Preps)*, *gSYNC TM DNA Extaction Kit (100 Preps)*, 200 μl , PBS (*Phosphat buffer Seline*), Carrier RNA, S1 Buffer GSB (*Gel Solubilitation Buffer*), S2 Buffer GSB (*Gel Solubilitation Buffer*), *Nucleid Acid*, alkohol 5%, GD *column* 2 ml *Collection tube*, *Proteinase K*, *Buffer W1*, *Wash buffer (Geneaid)*, *elution buffer*, *buffer AL-mix*, Enzym KAPA Ready Mix, MgCl_2 , DNA Template,

Nuclease Free Water, kertas label, tissu, *medic cool*, *primer forward*, *primer reverse*, tabung PCR (Sorensen, Cat. No 3922), Parafilm (Sigma, Cat. No. 7543), *Erlenmeyer*(*Schoott*), Filter tips 0.5-10 μ l (MBP, Cat. No 3922), Filter tips 10-*Disposable gloves*, *VipPlus PCR Chiller*, Tabung *Eppendorf*, Loading dye, *agarose*, *Marker 100bp*, *TBE Buffer 10x*.

H. Prosedur Kerja

Adapun prosedur kerja pada penelitian ini yaitu sebagai berikut:

1. Sterilisasi Alat Gelas

Adapun alat-alat gelas yang saya gunakan dalam penelitian ini yaitu tabung reaksi, cawan petri, *erlenmeyer* 250 ml, gelas ukur 100 ml, gelas baker (250ml dan 50 ml). Sebelum menggunakan alat gelas sebaiknya alat gelas disterilkan dengan cara sterilisasi kering. Membungkus alat-alat gelas menggunakan kertas sampai tidak ada permukaan yang kelihatan. Alat-alat gelas yang telah dibungkus kemudian dimasukkan kedalam oven. Atur suhu dan waktu untuk sterilisasi (ideal waktu dan suhu yang digunakan pada sterilisasi oven yaitu 180° selama 2-4jam).

2. Pengambilan Sampel Tanah

Sampel tanah yang akan diambil yaitu tanah sawah pada bagian tengah, tanah diambil menggunakan sekup kecil kemudian dimasukkan kedalam plastik.

3. Preparasi Media dan Isolasi Bakteri Tanah Penghasil Enzim Dehalogenase

a. Preparasi Medium Cair Basal Garam SBS (*Solutions Base Salt*)

Menyiapkan alat dan bahan. Komposisi bahan yang dibutuhkan yaitu 100 ml aquadest mengandung SBS (g/l) (1,5: K_2HPO_4 , 1,0: KH_2PO_4 , 0,5:(NH_4) $2SO_4$, 0,2: $MgSO_4 \cdot 7H_2O$) ditambah mineral 10ml mengandung (g/l) (12: $NaEDTA \cdot 2H_2O$, 2: $NaOH$, 0,4: $ZnSO_4 \cdot 2H_2O$, 1: $CuSO_4$, 10: Na_2SO_4 , 2: $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,1: $NaMoO_4 \cdot 2H_2O$, 0,5: H_2SO_4 , dan Yeast extract 0,05% Setelah semua bahan dicampur kemudian diautoklaf selama 20 menit. Kemudian tunggu sampai dingin.

b. Pemeliharaan Bakteri Dehalogenase Dengan Teknik Sub Kultur

Menggunakan Medium Cair SBS (*Solutions Base Salt*) Ditambah Herbisida DMA6 (2,4-D dimetil amina) Formula.

Menyiapkan medium cair SBS (*Solutions Base Salt*) 100 ml yang telah dingin, Satu gram sampel tanah sawah sekitar BTN Cita Alam Lestari Kel. Romang Polong, Kec. Somba Opu, Kab. Gowa diinokulasikan kedalam 100 ml SBS pada 250ml labu *erlenmeyer*. Medium cair yang telah diinokulasikan kemudian dinkubasi menggunakan *incubatorshaker* (150 rpm) pada suhu 37°C. Pertumbuhan dipantau dengan mengukur pelepasan klor dengan menggunakan *Colorimeter*. Setelah 3 hari kemudian sub kultur pertama diambil sebanyak 1 ml kemudian diinokulasikan ke medium cair SBS kedua. Sub kultur dilakukan sebanyak tiga kali dengan menggunakan

medium yang sama dengan kadar herbisida DMA6 (2,4-D dimetil amina) 0,173 ml. Setelah 3 kali sub kultur bakteri yang telah didapatkan akan diisolasi dan ditumbuhkan ke NA (*Nutrient Agar*) melalui seri penengerceran.

c. Pengukuran Kadar Klorin

Pertumbuhan bakteri dipantau dengan mengukur pelepasan klor, bakteri sub kultur I yang telah diinkubasi selama 3 hari kemudian saya bawah ke laboratorium PDAM Somba Opu Kab. Gowa untuk diukur kadar klornya, pertama mengambil 10ml dari sampel sub kultur I kemudian dimasukkan kedalam botol khusus untuk diukur menggunakan klorimeter. Botol kemudian dikasih masuk kedalam alat ukur klor kemudian tunggu beberapa menit dan hasil pelepasan klor dapat dilihat pada layar klorimeter.

d. Isolasi Bakteri Pada Media NA (*Nutrient Agar*) melalui Seri Pengenceran Bertingkat

Seri pengenceran yang saya gunakan sampai 10^{-7} . Menyiapkan 7 tabung reaksi yang masing-masing tabung reaksi berisi 9 ml aquadest. Kemudian mengambil 1 ml sampel dari medium cair sub kultur ke 3, kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi pengenceran pertama 10^{-1} . Selanjutnya mengambil 1 ml dari pengenceran pertama 10^{-1} dimasukkan kedalam tabung pengenceran 10^{-2} . Kegiatan tersebut dilakukan sampai pengenceran terakhir yaitu 10^{-7} . Setelah dilakukan pengenceran sampai tingkat 10^{-7} , semua hasil pengenceran ditumbuhkan atau diremajakan

kedalam media NA (*Nutrient Agar*). Menimbang 4 gr NA(*Nutrient Agar*) kemudian dimasukkan kedalam 200 ml aquadest, autoklaf selama 20 menit. Tuang pada cawan petri, Tunggu media sampa dingin dan mengeras setelah dingin, masing- masing pengnceran 10^{-1} sampai 10^{-7} diamabil 0,1 ml dan dituang kedalam media NA (*Nutrient Agar*) padat. Setelah dituang kemudian media NA (*Nutrient Agar*) diinkubasi didalam incubator selama 24jam suhu 37°C .

e. Karakterisasi Bakteri dengan Sifat Morfologi

Menyiapkan isolat bakteri yang ditumbuhkan pada media padat NA (*Nutrient Agar*). Setiap bakteri yang ditumbuhkan pada cawan petri diamati koloni yang tumbuh. Adapun yang diamati pada proses karakterisasi bakteri yaitu ukuran koloni, *margin* (pinggiran koloni), bentuk koloni, elevasi koloni, permukaan koloni, dapat tembus cahaya atau tidak dan warna koloni. Setelah dilakukan karakterisasi bakteri, koloni yang didapatkan akan ditumbuhkan pada media selanjutnya.

f. Isolasi bakteri pada media padat NA (*Nutrient Agar*) Miring

Menyiapkan NA (*Nutrient Agar*) padat miring. Menimbang NA (*Nutrient Agar*) 2 gr dilarutkan dalam 100 ml aquadest, autoklaf selama 20 menit, tuang kedalam tabung reaksi, miringkan tabung reaksi tunggu sampai dingin dan memadat, Dari hasil karakterisasi didapatkan 10 koloni yang berbeda. Masing-masing setiap koloni diambil satu inokulum dan

ditumbuhkan pada NA (*Nutrient Agar*) miring. Kemudian diinkubasi didalam inkubator selama 24 jam dengan suhu 37°C.

- g. Isolasi dan Pemeliharaan Bakteri Penghasil Enzim Dehalogenase Menggunakan Media Padat SBS (*Solution Base Salt*) dengan substrat herbisida DMA6 (2,4-D Dimetil Amina)

Menyiapkan alat dan bahan. Membuat media SBS (*Solution Base Salt*) padat 100ml dengan komposisi 1,5: K₂HPO₄, 1,0: KH₂PO₄, 0,5:(NH₄)₂SO₄, 0,2: MgSO₄.7H₂O 1,5 gr agar, 0.05% yeast extract, herbisida DMA6 (2,4-D Dimetil Amina) dan 100 ml aquadest. Setelah semua bahan tercampur, kemudian diautoklaf selama 20 menit. Kemudian dituang kedalam 10 cawan petri. Setelah media dingin, kemudian isolat bakteri pada NA (*Nutrient Agar*) miring, diambil satu inokulum menggunakan ose bulat. Kemudian ditumbuhkan pada media padat SBS dengan metode gores. Selanjutnya diinkubasi dalam inkubator selama 4 hari atau 96 jam dengan suhu 37°C.

- h. Seleksi Bakteri Penghasil Enzim Dehalogenase Pada Media Indikator SBS (*Solution Base Salt*) ditambah BTB (*Bromthymol Blue*)

Membuat media SBS (*Solution Base Salt*) padat 100 ml dengan komposisi yang sama dan substrat herbisida DMA6 (2,4-D Dimetil Amina) yang sama yaitu 0,173 ml ditambah 0,5 ml BTB (*Bromthymol Blue*) 0.4%. Media diautoklaf selama 20 menit, setelah media dingin, kemudian isolat bakteri dari media padat SBS (*Solution Base Salt*) ditumbuhkan pada media

indikator SBS (*Solution Base Salt*) ditambah BTB(*Bromthymol Blue*).Selanjutnya diinkubasi dalam inkubator selama 3 hari atau 72 jam dengan suhu 37°C. Aktivitas dehalogenase ditandai dengan perubahan warna media dari hijau menjadi kuning dan juga warna bakteri menjadi kuning.

i. Seleksi Bakteri Dehalogenasi Pada Berbagai Konsentrasi Herbisida DMA6 (2,4-D Dimetil Amina).

Bakteri hasil subkultur kemudian dilakukan uji ketahanan pertumbuhannya dengan berbagai konsentrasi herbisida DMA6 (2,4-D Dimetil Amina) formula 0,173 ml; 0,346 ml; dan 0,519 ml. Membuat 3 media yaitu SBS (*Solution Base Salt*) padat dengan komposisi yang sama.Masing-masing 3 labu *erlenmeyer* 250 ml berisi 100 ml media SBS (*Solution Base Salt*) dengan kadar herbisida yang berbeda. Konsentrasi I: Media padat SBS + Herbisida DMA6 (2,4-D Dimetil Amina) 0.173 ml.Konsentrasi II: Media padat SBS + Herbisida DMA6 (2,4-D Dimetil Amina) 0,346 ml.Konsentrasi III: Media padat SBS + Herbisida DMA6 (2,4-D Dimetil Amina) 0,519 ml.Masing isolat bakteri ditumbuhkan pada media SBS (*Solution Base Salt*) padat dengan berbagai konsentrasi.Media di inkubasi dalam inkubator selama 3 hari 72 jam dengan suhu 37°C.Bakteri yang mampu tumbuh pada konsentrasi 0,519 ml merupakan dosis 3 kali aplikasi herbisida dilapangan akan digunakan lebih lanjut untuk di identifikasi molekuler.

j. Pewarnaan Gram

Menyiapkan alat dan bahan yaitu isolat bakteri, *aquadest*, reagen *kristal violet*, reagen *iodium*, reagen *safranin*, *etanol*, bunsen, kaca preparat, ose bulat, tisudan mikroskop binokuler. Bersihkan kaca preparat menggunakan *etanol*, mengambil bakteri menggunakan ose dalam jumlah sedikit, kemudian digores pada kaca preparat, bilas menggunakan *aquadest* lalu difiksasi, kemudian diberi *kristalviolet* secukupnya kemudian diamkan selama 1 menit lalu bilas menggunakan *aquadest*, selanjutnya diberi *iodium* secukupnya diamkan 1 menit lalu diberi *etanol* 5 sampai 10 tetes fungsi *etanol* disini agar warna isolat tidak terlalu hitam, segera bilas dengan *aquadest*, selanjutnya diberi *safranin* diamkan 1 menit lalu bilas menggunakan *aquadest* lalu difiksasi, preparat kemudian diletakkan dibawah mikroskop binokuler. Perbesaan yang digunakan yaitu 100 x 1,25 nm.

4. Identifikasi Molekuler

Identifikasi bakteri tanah sawah sekitar BTN Cita Alam Lestari Kel. Romang Polong, Kec. Somba Opu, Kab. Gowa dideterminasi dengan menggunakan sekuen 16S-rRNA. Analisis Cluster padasekuens tersebut dilakukan dengan program BLAST (*Basic Local Alignment Tool*) dari NCBI (*National Center*

for Biotechnology Information). Gen 16S-rRNA dianalisis secara lengkap di 1 st Base Malaysia. Adapun langkah-langkah analisis gen 16S-rRNA dilakukan sebagai berikut:

a. Ekstraksi DNA

Tahapan ini merupakan serangkaian proses pemisahan DNA dari komponen-komponen sel lainnya. Pada ekstraksi DNA ini metode yang digunakan adalah metode ekstraksi DNA Kit (Geneaid DNA Purification Kit). Adapun langkah-langkah ekstraksi DNA adalah sebagai berikut:

1) Preparasi Sampel Bakteri

Sampel bakteri dimasukkan ke dalam tabung *mikrocentrifuge* (semua) kemudian tambahkan 200 μ l (*Phospat Buffer Saline*), *centrifuge* sampel mengambil pelet.

2) Melisiskan Sel Bakteri

Masukkan *Carrier RNA* ke tabung *mikrocentrifuge* sebanyak 0.6 μ l. Tambahkan 200 μ l *Buffer S 2* ke dalam tabung *mikrocentrifuge* sebanyak 500 μ l, lalu *vortex*. Tambahkan proteinase K sebanyak 200 μ l lalu *vortex*. Inkubasi selama 10 menit. Tambahkan 200 μ l GSB *buffer* lalu *vortex*, inkubasi selama 10 menit.

3) DNA Binding

Tambahkan ethanol 200 μ l lalu *vortex* selama 10 detik. Memindahkan semua campuran tersebut ke dalam GD Column (*Spin column*), sentrifugasi pada 13.000 Rpm selama 1 menit. Buang collection

tube yang berada di bawah spin column dan mengganti dengan collection tube yang baru.

4) Wash (Pencucian)

Tambahkan 400µl *buffer* W1 lalu *sentrifuge* selama 1 menit dengan kecepatan yang sama kemudian buang cairan yang ada pada *collection tube*. Tambahkan 600µl wash *buffer* (*Geneid*) *sentrifuge* selama 1 menit, lalu buang cairan pada *collection tube* dan *sentrifuge* kembali selama 3 menit. Buang *collection tube* dan letakkan *mikrocentrifuge* steril pada bagian bawah *spin column*.

5) Elution

Selanjutnya tambahkan 100 µl *Elution buffer* kemudian *sentrifuge* dengan kecepatan yang sama selama 1 menit. Cairan yang mengandung DNA yang tertampung pada tabung *mikrocentrifuge* disimpan pada -4 °C untuk digunakan sebagai template PCR.

b. Amplifikasi PCR (*Polimerase Chain Reaction*)

Untuk melakukan tahap PCR (*Polimerase Chain Reaction*) terdapat 3 tahapan, yaitu denaturasi dengan suhu 95 °C selama 30 detik, annealing dengan suhu 55°C selama 30 detik dan ekstention dengan suhu 72 °C selama 1 menit. 46 Prosedur ini dikerjakan pada sampel DNA yang telah diisolasi, ekstrak DNA dari sampel dan aquadest sebagai kontrol negatif. “PCR mix” dimasukkan ke dalam tabung PCR (Hiroaki, 2009).

Tabel 3.3.b. Komposisi Primer Mix

Reaksi	(μ l)
Enzym KAPA Ready Mix	25
Mgcl	2
Forward Primer	1
Reverse Primer	1
Dna Template	5
Nuclease Free Water	16
Total Premix	50

Amplifikasi dilakukan dengan menggunakan mesin PCR (DNA thermalCycler). Untuk amplifikasi PCR, tahap awal denaturasi pada suhu 95°C selama 15 menit, selanjutnya 95°C selama 15 detik, annealing pada suhu 55°C selama 15 detik, ekstensi 72°C selama 1 menit sebanyak 30 siklus dilanjutkan dengan ekstensi akhir suhu 72°C selama 5 menit sebanyak dan 12°C \pm 30 menit untuk penyimpanan.

c. Pembuatan Gel Agarose

Agarosa dibuat dengan melarutkan 2 gr agarose (BioRad) dalam 100 mL 10Tris borate EDTA (*EthyleneDiamineTetraAcid*) (100 g Tris base, 27.5 g asam borat, 20 ml 0.5 M EDTA pH 8.0 dalam 1 liter air). Kemudian dipanaskan sampai mendidih dan larut (bening). Selanjutnya ditambahkan 2

μ l *ethidiumbromida* dan dimasukkan dalam pencetak gel yang telah dipasangi sisir. Tunggu gel agarosa sampai memadat (sekitar 30 menit).

d. Elektroforesis

Gel agarose dimasukkan ke dalam tank elektroforesis yang berisi larutan TBE0.5x. masukkan DNA sampel yang telah dicampur dengan cairan “loading dye” ke dalam sumur dengan perbandingan 2 : 1, kemudian masukkan Marker 100bp setelah keseluruhan sampel telah dimasukkan. Elektroda dihubungkan dengan power supply, kemudian dinyalakan selama 1 jam (60 menit). Setelah itu,, alat elektroforesis dimatikan kemudian gel dari alat tersebut diambil. Gel dipindahkan ke dalam UV transulaminator kemudian diamati hasilnya pada komputer.

e. Analisis Data Sekuensing

Analisis data sekuensing dilakukan dengan menggunakan program softwareDNA star. Untuk analisa *sequencealignment*, dilakukan dengan membandingkan sekuens yang diperoleh (query) dengan yang telah ada pada Gene Bank dengan database search NCBI internet site (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) menggunakan BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*). Ukuran fragmen hasil amplifikasi PCR ditentukan dengan cara dibandingkan antara posisi ukuran penanda DNA

(Marker)dengan ukuran fragmen sampel. Hasil positif ditunjukkan dengan adanya band padaukuran 996 bps.



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Pengamatan

1. Karakterisasi Bakteri dengan Sifat Morfologi

Tabel 4.1. Karakterisasi Bakteri

ISOLAT	UKURAN	BENTUK	ELEVASI	PERMUKAAN	MARGIN
Koloni I	Sedang	Irreguler	Flat	Halus	Undulate
Koloni II	Besar	Irreguler	Flat	Berkerut	Undulate
Koloni III	Besar	Irreguler	Flat	Halus mengkilap	Lobate
Koloni IV	Besar	Irreguler	Flat	Halus mengkilap	Undulate
Koloni V	Besar	Spindle	Flat	Kasar	Entire
Koloni VI	Titik	Spindle	Convex	Halus mengkilap	Entire
Koloni VII	Kecil	Spindle	Raised	Halus mengkilap	Entire
Koloni VIII	Sedang	Irreguler	Flat	Halus mengkilap	Curlied
Koloni IX	Besar	Irreguler	Flat	Kasar	Undulate
Koloni X	Sedang	Halus	Flat	Halus	Lobate

2. Uji Ketahanan Bakteri Tanah Penghasil Enzim Dehalogenase Terhadap Herbisida DMA6 (2,4-D Dimetil Amina) Formula Dengan Konsentrasi Berbeda.

Tabel 4.2. Uji Ketahanan Bakteri Dehalogenase Pada Substrat Herbisida (2,4-D dimetil amina) Dengan Berbagai Konsentrasi.

ISOLAT	Dma6 (2,4-D Dimetil Amina) Formula 0,173 ml	Dma6 (2,4-D Dimetil Amina) Formula 0,346 ml	Dma6 (2,4-D Dimetil Amina) Formula 0,519ml
Isolat I	Tumbuh	Tumbuh	Tumbuh
Isolat III	Tumbuh	Tumbuh	Tumbuh
Isolat IV	Tumbuh	Tumbuh	Tumbuh
Isolat VI	Tumbuh	Tumbuh	Tumbuh
Isolat VIII	Tumbuh	Tumbuh	Tumbuh
Isolat X	Tumbuh	Tumbuh	Tumbuh

3. Identifikasi Molekuler

Tabel 4.3 hasil identifikasi molekuler Isolat bakteri VI dan X menggunakan BLAST dari NCBI

ISOLAT	Jenis spesies	Strain	Kemiripan (%)	Query Coverage (%)
VI	<i>Bacillus cereus</i>	M13	97%	99%
X	<i>Bacillus thuringiensis</i>	QZL38	91%	98%

B. Pembahasan

1. Karakterisasi Bakteri Dengan Sifat Morfologi

Isolat bakteri tanah sawah sekitar BTN Cita Alam Lestari, Kel. Romang Polong, Kec. Somba Opu, Kab. Gowa setelah 3 kali subkultur pada medium cair SBS (*Solution Base Salt*) dan diremajakan dalam media NA (*Nutrient Agar*) untuk memperoleh bakteri yang sehat, aktif dan tersedia dalam jumlah yang cukup banyak, murni dan mampu memproduksi enzim sesuai dengan yang diharapkan. Kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Selanjutnya karakteristik dengan sifat morfologi Koloni dari kultur murni selanjutnya diamati morfologinya. Pengamatan yang dilakukan meliputi ukuran koloni, bentuk koloni (*whole colony*), bentuk tepi (*Margin*), dan bentuk permukaan (*elevation*) (Suhaeni, 2016). Pada karakterisasi tersebut didapatkan 10 koloni yang berbeda. Selanjutnya 10 koloni diremajakan pada media NA (*Nutrient Agar*) miring. Tujuan isolat bakteri ditumbuhkan pada media NA (*Nutrient Agar*) miring, agar mengurangi terjadinya kontaminasi serta mempermudah pada saat pengambilan isolat untuk digunakan pada uji selanjutnya. Diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C. Selanjutnya 10 koloni ditumbuhkan pada media uji yaitu media SBS (*Solution Base Salt*) padat untuk diseleksi dan dilihat kemampuannya menggunakan herbisida DMA6 (2,4-D *dimetil amina*) formula.

2. Uji Ketahanan Bakteri Tanah Penghasil Enzim Dehalogenase Terhadap Herbisida DMA6 (2,4-D Dimetil Amina) Formula Dengan Konsentrasi Berbeda

Hasil subkultur dari isolat sampel tanah sawah sekitar BTN Cita Alam Lestari, Kel. Romang Polong, Kec. Somba Opu, Kab. Gowa setelah 3 kali subkultur berturut-turut pada medium cair basal garam SBS (*Solution Base Salt*) dan ditumbuhkan pada media padat SBS (*Solution Base Salt*) yang ditambah herbisida DMA6 (2,4-D dimetil amina) formula dengan dosis 0,173 ml didapatkan 6 isolat dari sampel tanah sawah sekitar BTN Cita Alam Lestari, Kel. Romang Polong, Kec. Somba Opu, Kab. Gowa yang mampu tumbuh pada medium SBS (*Solution Base Salt*) yaitu isolat I, III, IV, VI, VIII dan X.

Pada tahap isolasi dan pemeliharaan bakteri pada medium SBS (*Solution Base Salt*) yang mengandung herbisida DMA6 yang berhasil tumbuh menggunakan herbisida tersebut adalah isolat dengan kode label I, III, IV, VI, VIII dan X sedangkan 4 isolat lainnya yaitu II, V, VII dan IX tidak dapat tumbuh atau tidak dapat menggunakan herbisida DMA6 (2,4-D dimetil amina). Hal ini menunjukkan bahwa isolat bakteri II, V, VII dan IX tidak memiliki kemampuan untuk menjadikan DMA6 (2,4-D dimetil amina) sebagai satu-satunya sumber karbon tidak mampu hidup dalam media SBS (*Solution Base Salt*) yang mengandung herbisida DMA6 (2,4-D dimetil amina). Oleh sebab itu digunakan media SBS (*Solution Base Salt*) ini untuk menyeleksi bakteri yang diinginkan.

Medium cair basal garam SBS (*Solution Base Salt*) Merupakan media selektif yaitu media yang mampu menumbuhkan bakteri tertentu (bakteri target atau bakteri yang kita inginkan) dan menghambat pertumbuhan bakteri lain dalam hal ini yaitu bakteri pendegradasi senyawa herbisida, medium SBS (*Solution Base Salt*) juga mengandung unsur pokok tertentu yang menghambat pertumbuhan dari jenis mikroorganisme tertentu.

Kemampuan bakteri tanah tumbuh pada medium subkultur dan medium padat SBS (*Solution Base Salt*) mengindikasikan bahwa mikrobia memiliki kemampuan menggunakan herbisida DMA6 (2,4-D dimetil amina) formula sebagai sumber karbon atau makanannya sendiri. Adanya kemampuan menggunakan herbisida karena bakteri tersebut memiliki enzim dehalogenase. Enzim dehalogenase merupakan serangkaian enzim yang mengkatalis pelepasan ion klor yang toksis. Putusnya ion klor dan cincin aromatik dari substrat DMA6 (2,4-D dimetil amina) formula akan mempermudah dikatabolisme menjadi sumber energi bagi sel (Nurhayati, 2008).

Bakteri yang diperoleh dari 6 isolat yang berasal dari tanah sawah sekitar BTN Cita Alam Lestari Kel. Romang Polong Kec. Somba Opu, Kab Gowa kemudian akan dilakukan uji ketahanan pertumbuhan dengan berbagai konsentrasi DMA6 (2,4-D dimetil amina) formula yaitu 0,173 ml; 0,346 ml dan 0,519 ml. Bakteri yang memiliki kemampuan tumbuh pada konsentrasi 0,519 ml merupakan dosis 3 kali aplikasi herbisida di lapangan atau pemakaian para petani akan digunakan lebih lanjut untuk uji identifikasi molekul supaya dapat diketahui nama spesies dari bakteri tersebut. Keenam isolat tersebut I, III, IV, VI, VIII, dan X semuanya memiliki

kemampuan tumbuh pada konsentrasi 0,519 ml herbisida DMA6 (2,4-D dimetil amina) formula seperti tertera pada tabel diatas.

Berdasarkan tabel diatas dapat dilihat bahwa pada konsentrasi herbisida DMA6 (2,4-D dimetil amina) 0,173 ml yang merupakan dosis yang digunakan para petani seluruh bakteri dapat tumbuh hal ini mengindikasikan bahwa dosis 0,173 ml aman bagi semua isolat I, III, IV, VI, VIII dan X. Pada dosis 0,346ml yang merupakan 2 kali dosis aplikasi di lapangan dapat digunakan sebagai sumber C untuk pertumbuhan dan sumber bagi semua isolat. Demikian juga pada dosis 0,519 ml herbisida DMA6 (2,4-D dimetil amina) hal ini mengindikasikan bahwa semua isolat memiliki ketahanan yang baik. Kemampuan tumbuh semua isolat bakteri I, III, IV, VI, VIII dan X pada herbisida DMA6 (2,4-D dimetil amina) formula dikarenakan bakteri memiliki serangkaian enzim terutama enzim kuncidehalogenase. Enzim dehalogenase adalah enzim yang mengkatalisis pelepasan klor dari senyawa utamanya. Lepasnya halogen dari struktur utama herbisida DMA6 (2,4-D dimetil amina) formula akan menghilangkan tingkat toksisitas herbisida tersebut. Hilangnya toksisitas DMA6 (2,4-D dimetil amina) formula memungkinkan semua isolat menggunakan senyawa hasil biodegradasi DMA6 (2,4-D dimetil amina) untuk pertumbuhan dan sumber energi. Proses pemecahan senyawa kloroaromatik juga melibatkan berbagai enzim lain seperti enzim yang bekerja untuk memutus gugus asetat dari C1. Biodegradasi senyawa aromatik yang kompleks ini juga melibatkan enzim yang dapat mengkatalisis pemutusan gugus metil pada C2. Salah satu reaksi kunci dalam biodegradasi herbisida terhalogenasi ini adalah substitusi klor pada atom C4

merupakan reaksi kunci yang dikatalisis enzim dehalogenase. Cincin aromatik yang terputus membentuk senyawa rantai karbon lurus menyebabkan mikrobia dapat menggunakan C sebagai sumber karbon dan energi. Jika reaksi berjalan sempurna dan lengkap maka dihasilkan produk akhir CO_2 , H_2O dan klorida.

Berdasarkan uji ketahanan bakteri tanah penghasil enzim dehalogenase terhadap herbisida DMA6 (2,4-D *dimetil amina*) formula dengan konsentrasi berbeda didapatkan hasil bahwa semua isolat bakteri mampu tumbuh dan menggunakan herbisida DMA6 (2,4-D *dimetil amina*) sebagai sumber karbon. Isolat yang tumbuh akan digunakan untuk uji selanjutnya yaitu identifikasi molekuler. Isolat yang akan diidentifikasi molekuler yaitu isolat dengan kode label I, VI, VI dan X dipilih berdasarkan pengamatan morfologi dan pertumbuhan bakterinya.

3. Identifikasi Molekuler

Identifikasi molekuler dengan teknik PCR (*Polymerase chain reaction*) banyak digunakan karena prosesnya lebih cepat, efisien dan hasil yang lebih akurat untuk menentukan spesies pada suatu mikroorganisme seperti bakteri. Dalam proses identifikasi molekuler mikroorganisme, ada 3 tahap dalam proses PCR (*Polymerase chain reaction*) yaitu ekstraksi DNA, amplifikasi PCR, dan elektroforesis serta tahap *sekuensing*.

Pada tahap ekstraksi terjadi pemisahan benang-benang DNA dengan komponen sel yang lain. Dalam prosedur manual ini ada beberapa proses penting dalam ekstraksi yaitu preparasi sampel (*sample preparation*), lisis sel (*cell lysis*), pengikatan DNA (*DNA binding*), pencucian (*wash*) dan elusi (*elution*). Ekstraksi

DNA diperoleh dengan cara melisiskan atau memecahkan dinding sel sehingga DNA akan keluar dari dalam sel. Kemudian tahap DNA *binding* berfungsi mengikat DNA target yang dilanjutkan dengan *whasing* yang akan mencuci/membersihkan DNA dari komponen organel sel lainnya yang tidak dibutuhkan dan tahap akhir adalah elusi (*elution*). Semua proses ekstraksi DNA tersebut dilakukan dengan memacu pada pedoman/instruksimanual oleh protokol geneaid dengan menggunakan Presto™ Buccal Swab gDNA Extraction Kit (100 Preps) untuk sampel swab dan gSYNC™ DNA Extaction Kit (100 Preps) untuk sampel tetes langsung (Lestari.A.A, 2018: 46).

Marker DNA yang terdapat dalam gel elektroforesis berfungsi untuk mengetahui ukuran DNA hasil amplifikasidan sebagai penanda posisi molekul DNA yang bermigrasi untuk menentukan perkiraan ukuran basa-basanya. *Loading dye* berfungsi sebagai pemberat agar tidak keluar dari sumuran. *Etidium bromida* sebagai pewarna DNA. *2x KAPA2G FastReady Mix PCR Kit* merupakan master mix PCR komersial yang didalamnya terkandung *Taq* DNA Polymerase, PCR buffer, MgCl₂, dNTP, dan ddH₂O. Mastermix PCR komersial ini berfungsi sebagai komponen atau campuran DNA templateyang akan diamplifikasi menggunakan mesin PCR. Primer Forward berfungsi untuk menginisiasi sintesis untai DNA dari ujung 5'-----3' sedangkan Primer Reverse berfungsi untuk Menginisiasi sintesis untai DNA dari ujung 3'-----5'. Hasil isolasi genomik DNA kemudian diamplifikasi dengan PCR sebanyak 35siklus. Untuk mengetahui ukuran produk hasil amplifikasi maka dilakukan elektroforesis selama 1 jam (60 menit) menit 100 volt pada gel agarosa (Aditia, 2016:84).

Hasil *elektroforesis* pada sampel I, IV, IV dan X yang berasal dari tanah sawah sekitar BTN Cita Alam Lestari Kel. Romang Polong Kec. Somba Opu, Kab Gowa diketahui terdapat pita yang terseparasi dan sejajar dengan marker sekitar 100bp. Hal ini mengindikasikan bahwa fragmen gen yang teramplifikasi dengan ukuran band ± 996 bps, yang menunjukkan sehingga dapat disimpulkan bahwa proses amplifikasi sampel berhasil dilakukan. Target yang telah dicapai ini cukup untuk melakukan identifikasi spesies bakteri tersebut. Selanjutnya, hasil dikirim ke PT. Genetika Science Indonesia yang kemudian akan dikirim ke 1st BASE sequencing INT di Malaysia untuk pemetaan pasang basa yang berhasil di amplifikasi. Hasil yang diperoleh dari Malaysia selanjutnya dianalisis pada Gen Bank menggunakan analisis BLAST. Analisis BLAST dilakukan dengan tujuan untuk membandingkan hasil yang diperoleh dengan hasil sekuen DNA dari seluruh dunia yang didepositkan pada database Gen Bank. Analisis hasil BLAST tersebut memberikan informasi mengenai bakteri apa yang mempunyai kesamaan dengan urutan DNA sampel sehingga dapat digunakan untuk identifikasi bakteri. Analisis BLAST dilakukan secara online pada website *National Center for Biotechnology Information* (NCBI, 2016): (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). Ciri-ciri sequens dari gene bank yang paling mirip dengan sequens DNA yang diperoleh yaitu, nilai *Max Score* dan *Total Score* sama, *Query Coverage* mendekati 100%, *E-value* mendekati 0, dan *Identities* mendekati 100%. Dari kelima parameter tersebut, nilai *Query Coverage* yang paling penting karena menunjukkan persentase database yang tertutupi oleh *Query*. Apabila nilai *E-*

Value semakin mendekati nol, hasilnya akan lebih terpercaya dan bila nilainya 1, maka tidak boleh digunakan (Narita, 2012 dalam *skripsi* Aditia, 2016:86).

Identifikasi bakteri yang dilakukan dengan 16 rRNA berdasarkan pada perbandingan basa yang konservatif. Urutan basa yang memiliki persamaan yang tinggi maka strain tersebut dapat dimasukkan dalam satu spesies yang sama. Indikator dari hasil analisis BLAST pada gen 16 rRNA yang memiliki homologi kurang dari 98% menunjukkan bahwa spesies bakteri yang dibandingkan adalah spesies yang berbeda, pada homologi antara 93-97% menunjukkan bahwa bakteri tersebut berada pada genus yang berbeda dan pada homologi antara 89-93% menunjukkan bahwa bakteri tersebut berada pada famili yang berbeda. Kumpulan data spesies tersebut memuat data klasifikasi, diagnose yang dilakukan merupakan analisis berdasarkan persamaan urutan basa menggunakan jarak matrik, metode yang biasa digunakan yaitu *Multiple Sequence Alignment*(MSA) yang merupakan sebuah metode yang akan mengelompokkan suatu strain berdasarkan derajat kesamaan urutan basa antar spesies (Wulandari, 2015).

a. Isolat Bakteri I

Pada sampel isolat bakteri yang berasal dari tanah sawah sekitar BTN Cita Alam Lestari, Kel. Romang Polong, Kec. Somba Opu, Kab. Gowa diberi kode I dan sampel diidentifikasi menggunakan metode PCR dengan primer 16S-rRNA selanjutnya disekuensing yang memperlihatkan urutan basa nukleotida dengan panjang kueri 900 sebagai berikut:

AAGTCGTA CTTTGT CCGATTATTGGGCGTAGAGTTTGTAAAGCGGTTTTT
AGTGAGGAAGTCTTTGAGGAGGATCCGCGGAGGTGGGACAGATGATTGC
GGTGCTTTGGAGAAAGTAACCGATCCCCTGCCCGCACCCCTTTCCAACCAC
TTTCTTTTGTCTTCCCTACTTGGATCGCGGGGCCACCGTCGCCGCTCCCC
CCCCCCCCTGCCTCATTACTGAAACTTTAACTTTCAATTATTCATCAACTA
CTCAACGTACCTGA

b. Isolat Bakteri IV

Pada sampel isolat bakteri yang berasal dari tanah sawah sekitar BTN Cita Alam Lestari, Kel. Romang Polong, Kec. Somba Opu, Kab. Gowa diberi kode IV dan sampel diidentifikasi menggunakan metode PCR dengan primer 16S-rRNA selanjutnya disekuensing yang memperlihatkan urutan basa nukleotida dengan panjang kueri 900 sebagai berikut:

CCCAGGTACCGTTCTCCGGATTTTGTGAGCAAAGTTTCAATGCCAACCCC
CGGTTACTCCCCCTTTTCGTCTTCCCACTCTTCCCCTCTCGGTATGTTTCGATT
CTTTTCTCATTTTACAAATTCCCTTTCCTTTGCACTTTGTGTTAACATAAA
TTTTGATAATTTTCACCTTCTCATCCTTTGTTTTTCTCGACTTCTTCTCCTT
CTGCTATATGTACCGTTCTCTTATCTTTCTTGATCTCAATCCAGTAACACT

c. Isolat Bakteri VI

Pada sampel isolat bakteri yang berasal dari tanah sawah sekitar BTN Cita Alam Lestari, Kel. Romang Polong, Kec. Somba Opu, Kab. Gowa diberi kode VI dan sampel diidentifikasi menggunakan metode PCR dengan primer 16S-rRNA

selanjutnya disekuensing yang memperlihatkan urutan basa nukleotida sebagai berikut:

NNNNNNACNNNNNGGATTATTGGGCGTAAGCGCGCGCAGGTGGTTTCTTAAGTC
TGATGTGAAAGCCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAACTGGGAGACTT
GAGTGCAGAGAGGAAAATGGAATTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGAT
ATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAAGTACACTGAGG
CGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTA
AACGATGAGTGCTAAGTGTTAGAGGGTTTCCGCCCTTTAGTGCTGAAGTTAACG
CATTAAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATT
GACGGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGA
AGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCTCTGAAAACCCTAGAGATAGGGCTTCTCCT
TCGGGAGCAGAGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGAT
GTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGATCTTAGTTGCCATCATTAAAG
TTGGGCACTCTAAGGTGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGAC
GTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGACGG
TACAAAGAGCTGCAAGACCGCGAGGTGGAGCTAATCTCATAAAACCGTTCTCAG
TTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCGC
GGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGACACACCGCCCGTCA
CACCACGAGAGTTTGTANCACCCCAAGTCGGTGAGGTAACTTTTTGGAGCCAG
CCGCCTAACGTGAGACAGATGATTGAGGTGAGGTGCGNAACAAGGAAGCGAATA
GANAG

Hasil sekuensing yang diperoleh selanjutnya dianalisis pada Gen Bank menggunakan analisis BLAST. Analisis BLAST dilakukan secara online pada

website NCBI <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>. Hasil analisis BLAST dari sampel Isolat bakteri VI dapat dilihat pada tabel diatas.

Pada sampel isolat bakteri VI didapatkan spesies bakteri yaitu *Bacillus cereus* dengan strain M13 dengan *max score* 1698 dan *total score* 22004 *score* adalah jumlah keselarasan semua segmen dari urutan database yang cocok dengan urutan nukleotida. Nilai skor menunjukkan keakuratan nilai penjajaran sekuens berupa nukleotida yang tidak diketahui dengan sekuens nukleotida yang terdapat di dalam genbank. Semakin tinggi nilai skor yang diperoleh maka semakin tinggi tingkat homologi kedua sekuens, *query coverage* 97% yaitu persentasi dari panjang nukleotida yang selaras dengan database yang terdapat pada BLAST, *max identity* 99% yaitu nilai tertinggi dari persentasi identitas atau kecocokan antara sekuen *query* dengan sekuen database yang tersejajarkan, dan nilai *E-value* 0.0 menunjukkan bahwa kedua sekuens tersebut identik.

Bacillus cereus berbentuk batang Gram-positif, spora, motil, aerob dan juga tumbuh dengan baik secara anaerob serta dapat membentuk spora (endospora). Adanya Spora pada *Bacillus cereus* sehingga dapat lebih tahan lama hidup pada panas kering. *Bacillus cereus* lebih tahan pada panas kering dari pada panas lembab serta bertahan lama pada produk yang kering. Selnya berbentuk batang besar (*Bacillus*) dan sporanya tidak membengkakkan sporangiumnya, bersifat motil, dan hemolitik. (Granum dkk, 1997). *Bacillus cereus* dapat membentuk endospora secara intraseluler sebagai respon terhadap kondisi lingkungan yang kurang

menguntungkan, oleh karena itu anggota *Bacillus cereus* memiliki toleransi yang tinggi terhadap kondisi lingkungan yang selalu berubah (Sulaeman, 2016).

Bacillus cereus juga telah berevolusi sehingga dapat hidup walaupun di bawah kondisi keras dan lebih cepat mendapatkan perlindungan terhadap stressituasi seperti kondisi pH rendah (asam), bersifat alkali, osmosa, atau kondisi oksidatif, dan panas atau etanol. Bakteri ini hanya memiliki satu molekul DNA yang berisi seperangkat setkromosom. Beberapa keunggulan dari bakteri ini adalah mampu mensekresikan antibiotik dalam jumlah besar ke luar dari sel.

Pada sampel isolat VI didapatkan bakteri yang sama yaitu *Bacillus cereus*. Bakteri *Bacillus cereus* ada di mana-mana. Diyakini bahwa habitat utama *Bacillus cereus* adalah tanah. Lebih sering dalam makanan seperti daging, unggas, susu, sereal, pati, bumbu, dan rempah-rempah (Tajkarimi, 2007). *Bacillus cereus* merupakan bakteri yang termasuk dalam golongan bakteri ektrim karena *Bacillus cereus* dapat bertahan hidup dan menyesuaikan diri pada lingkungan dibanding bakteri tanah yang lain. Selain alasan tersebut terdapat alasan lain dimana pada saat pengambilan sampel tanah yang digunakan pada proses pemeliharaan dan isolasi adalah tanah sawah yang telah kering (pasca panen) sehingga bakteri yang berhasil diisolasi adalah bakteri *Bacillus cereus*.

Faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan *Bacillus cereus* adalah kisaran suhu pertumbuhan dari 7–49°C (44,6–120,2°F) dengan minimum 4–5°C (39,2–41 ° F) dan maksimum sekitar 48–50°C (118,4–122 ° F). Umumnya, kisaran suhu spora germinasi dari 8–30°C (46,4–86°F) rentang pH untuk pertumbuhan pH

4,9-9,3. Aktivitas air minimum 0,91-0,93. Konsentrasi garam setinggi 7,5% NaCl, beberapa mentoleransi 10% Eh tidak ada efek nilai D termal untuk spora pada 100 ° C sekitar 3 menit, tetapi beberapa spora jauh lebih tahan. Spora lebih tahan terhadap iradiasi dibandingkan sel vegetatif. Dosis untuk 90% pengurangan spora adalah 1,25 - 4 kGy, dan 0,17-0,65 kGy sel vegetatif (Tajkarimi, 2007). Selain *Pseudomonas* sp. *Bacillus cereus* diketahui merupakan bakteri yang peranannya sangat besar dalam mendegradasi senyawa pencemar seperti herbisida (Budiyanto, 2002).

Adapun Klasifikasi bakteri *Bacillus cereus* adalah sebagai berikut:

Kingdom : Procaryotae
Phylum : Bacteria
Class : Schizomycetes
Order : Eubacteriales
Family : Bacillaceae
Genus : Bacillus
Spesies : *Bacillus cereus* (Dwijoseputro, 2005).

d. Isolat Bakteri X

Pada sampel isolat bakteri yang berasal dari tanah sawah sekitar BTN Cita Alam Lestari, Kel. Romang Polong, Kec. Somba Opu, Kab. Gowa diberi kode VI dan sampel diidentifikasi menggunakan metode PCR dengan primer 16S-rRNA selanjutnya disekuensing yang memperlihatkan urutan basa nukleotida sebagai berikut:

NNNNNNNCGTNNCGGATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGTGGTTTCT
TAAGTCTGATGTGAAAGCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAAA
CTGGGAGACTTGAGTGCAGAGAGGAAAATGGAATTCCATGTGTAGCGGT
GAAATGCGTAGAGATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTTTCTG
GTCTGTAAGTACTGACACTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTA
GATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGAGG
GTTTCCGCCCTTTAGTGCTGAAGTTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGG
AGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGGCCCGCACA
AGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCA
GGTCTTGACATCCTCTGAAAACCCTAGAGATAGGGCTTCTCCTTCGGGAG
CAGAGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTT
GGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGATCTTAGTTGCCATCATT
AGTTGGGCACTCTAAGGTGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGG
GATGACGTCAAATCATCATGCCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTA
CAATGGACGGTACAAAGAGCTGCAAGACCGCGAGGTGGAGCTAATCTCA
TAAAACCGTTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGC
TGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAACATGCCGCGGTGAATACGTTCCCG
GGCCTTGTACACACCGACCGCCCCACCACGAGAGNNTGTGACACCCCAN
CTCGNTGGGGGAANNANNCTGGAGCCGNNCCCCCACGCGAGAGAGAGA
ANNNGGTGGGGCCNAAANNTGTAACNGGNAAAA

Pada sampel isolat bakteri X didapatkan spesies bakteri yaitu *Bacillus thuringiensis* dengan strain QZL38 dengan *max score* 1570 dan *total score*

21985 $score$ adalah jumlah keselarasan semua segmen dari urutan database yang cocok dengan urutan nukleotida. Nilai skor menunjukkan keakuratan nilai penjajaran sekuens berupa nukleotida yang tidak diketahui dengan sekuens nukleotida yang terdapat di dalam genbank. Semakin tinggi nilai skor yang diperoleh maka semakin tinggi tingkat homologi kedua sekuens, *query coverage* 91% yaitu persentasi dari panjang nukleotida yang selaras dengan database yang terdapat pada BLAST, *max identity* 98% yaitu nilai tertinggi dari persentasi identitas atau kecocokan antara sekuen *query* dengan sekuen database yang tersejajarkan, dan nilai *E-value* 0.0 menunjukkan bahwa kedua sekuens tersebut identik.

Bacillus thuringiensis merupakan salah satu anggota *Bacillus cereus* grup bersamadengan *Bacillus anthrax*. *Bacillus thuringiensis* mempunyai ciri khusus yaitu kemampuannya untuk menghasilkan protein kristal protoksin intraseluler dari kelompok δ -endotoksin sehingga dapat dibedakan dengan *B. Cereus*. Endospora berbentuk oval hingga silindris, terletak parasentral atau terminal.

Bacillus thuringiensis merupakan bakteri gram-positif, berbentuk batang, dan tersebar secara luas di berbagai negara. Bakteri ini termasuk patogen fakultatif dan dapat hidup di daun tanaman konifer maupun dalam tanah. Apabila kondisi lingkungan tidak menguntungkan maka bakteri ini akan membentuk fase sporulasi. Saat sporulasi terjadi, tubuhnya akan terdiri dari protein *Cry* yang termasuk ke dalam protein kristal yang disebut δ -endotoksin.

Spora *Bacillus thuringiensis* merupakan suatu usaha perlindungan diri dari pengaruh lingkungan luar yang buruk, hal ini terjadi karena dinding bakteri yang

bersifat impermeabel. Pembentukan spora juga bersamaan dengan terbentuknya kristal protein yaitu ketika sel mengalami lisis sesudah sporulasi sempurna. *Bacillus thuringiensis* juga merupakan bakteri yang ekstrim yang mampu menyesuaikan diri terhadap lingkungannya.

Adapun Klasifikasi bakteri *Bacillus thuringiensis* adalah sebagai berikut

Kingdom	: Eubacteria
Phylum	: Bacteria
Class	: Schizomycetes
Order	: Eubacteriales
Family	: <i>Bacillaceae</i>
Genus	: <i>Bacillus</i>
Spesies	: <i>Bacillus thuringiensis</i> (Dwijoseputro, 2005).

Pada hasil sekuensing yang diperoleh dari isolat I dan IV tidak dapat dianalisis pada Gen Bank menggunakan analisis BLAST Karena adanya kesalahan pada tahap awal dimulai dari ekstraksi DNA yaitu adanya kontaminasi dan isolat bakteri tersebut kotor sehingga DNA yang akan disekuensing tidak dapat dianalisis.

BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

Adapun kesimpulan pada penelitian ini yaitu herbisida DMA6 (2,4-D dimetil amina) merupakan salah satu jenis herbisida yang masuk dalam golongan fenoksi. Dimetil amina juga merupakan herbisida dengan persistensi rendah, namun senyawa ini berpotensi sebagai polutan. Berdasarkan hasil uji ketahanan bakteri tanah penghasil enzim dehalogenase terhadap herbisida DMA6 (2,4-D Dimetil Amina) formula yaitu didapatkan 10 isolat bakteri dan yang hanya mampu menggunakan herbisida DMA6 (2,4-D Dimetil Amina) formula adalah isolat 6 isolat I, III, IV, VI, VIII, X. Agar diketahui jenis spesiesnya maka dilakukan identifikasi molekuler, ada 4 isolat yang akan diuji lanjut dilihat dari pertumbuhan koloni yang paling banyak. Nama spesies bakteri yang didapatkan yaitu isolat VI dan X sama sama bakteri *Bacillus cereus* strain M13 dan *Bacillus cereus* strain QZL38.

B. Saran

Adapun saran yang dapat penulis sampaikan untuk penelitian selanjutnya dan untuk para petani yaitu dalam penggunaan konsentrasi herbisida dilapangan sebaiknya tidak lebih dari dosis 0,519 ml dan sebaiknya sebelum melakukan kultur tanah, alat ukur klorin telah disiapkan.

KEPUSTAKAAN

- Abdullah. *Tafsir Ibnu Katsir Jilid 5*. Bogor: Pustaka Imam asy-Syafi'i, 2003.
- Aditia, L. "Isolasi dan Identifikasi Molekuler Bakteri Penghasil Enzim Kitinase dari Limbah Pengolahan Udang". *Skripsi*. Makassar: Fakultas Sains Dan Teknologi Uin Alauddin Makassar, 2016.
- Akhdiya, A. *Isolasi Bakteri Penghasil Enzim Protease Alkalik Termotabil*. Buletin Plasma Nutfah. (2003). 9 (2).
- Alam, M.S, Sarjono P.R, Aminin, A.L.N. 2013. *Isolasi Bakteri Selulolitik Termofilik Kompos Pertanian Desa Bayat, Klaten, Jawa Tengah*. Chem Info. No.1(1) : 190-195.
- Allen, O.N., and E. K. Allen. *The Leguminosae*. The University of Wisconsin. Press. Madison. 812 p. 1981.
- Anderson, W.P. *Weed Science : Principles and Applications. Third Edisi*. United States of America. Waveland Press, Inc. (2007). p: 59
- Asri Nora. Enny R. Dessy N. "Identifikasi dan Isolasi Haloalkana Dehalogenase dari *Pseudomonas Aeruginosa* Strain Lokal". *Jurnal IJOBB* 1.1. (2017) hal: 14-19.
- Balajee, S & Mahadevan, A. "Utilization of chloroaromatic substances by *Azotobacter chroococcum*". *Syst. Appl. Microbiol.* 13. (1990). Page: 194-198.
- Barrow, G.I., Feltham, R.K.A; ed, *Cowan and Steel's manual for identification of medical bacteria* 3rd ed. Cambridge University Press. 2003.
- Berg MJ, Tymoczko JL, and Stryer L. *Biochemistry*. Six Edition. San Francisco: WH Freeman, 2007.
- Bojar, S.G.H., Zamanian, S., Aghighi, S., Farokkhi, R. Mahdavi, M.J., & Saadoun, I. (2006). Antibacterial Activity of Iranian *Streptomyces coralus* strain 63 Against *Ralstonia solanacearum*. *Journal of Biological Science* 6 (1): 127-129 (2006).

- Brown, T.A. Genomes, 2nd Edition Oxford: Garland Science Ltd. ISBN-10: 0-471-25046-5.2002.
- Case RJ, Boucher Y, Dahllöf I, Holmström C, Doolittle WF, and Kjelleberg S. "Use of 16S rRNA and rpoB genes as molecular markers for microbial ecology studies". *Applied and Environmental Microbiology* 73 no.1 (Januari 2007): 278-288.
- Chandrasekaran B, Annadurai K, Somasundaram E.. A Textbook of Agronomy. New Age International (P) Ltd. New Delhi. 835p. 2010.
- Commandeur & Parsons,. *Degradation of halogenated aromatic compounds. Microbiol. Rev.* 55 (1994), 59-79.
- Correaa, M.F., Quintana, A., Duquea., C, Suarez, C Rodriguez, M.X., Barea, J.M. (2010). "Evaluation of actinomycete strains for key traits related with plant growth promotion and mycorrhiza helping activities". *Applied Soil Ecology* 45 (2010) 209–217
- Djojosemarto, P. Teknik Aplikasi Pestisida Pertanian Edisi Revisi. Yogyakarta: Kanisius.. 2008.
- Don, R.H. & J.M. Pemberton, "Properties of six pesticide degradation plasmids isolated from *Alcaligenes paradoxus* and *Alcaligenes eutrophus*. *J. Bacteriol.* 145. (1981). Page: 681-686.
- Drancourt, M., Bollet, C., Carlöz, A., Martelin, R., Gayral, J.P., & Raoult, D. 16S ribosomal DNA Sequence Analysis a Large Collection Of Environmental and Clinical Unidentifiable Bacterial Isolates. *J Clin Microbiol*, 38, (2000): 3623-30.
- Dwijoseputro. D. Dasar-dasar mikrobiologi. Djambatan: Jakarta. (2005).
- Elfita, Muharni, Munawar, Salni, dan Ade Oktasari. 2010. *Senyawa Antimalaria dari Jamur Endofitik Tumbuhan Sambiloto (Andographis paniculata Nees)*. Jurnal Natur Indonesia. No.13(2) : 123-129.
- Evans, W.C.; Smith B.S; W. Fernly, H. Davies, N; "Bacterial metabolism of a gene cluster involved in 3-chlorocatechol degradation". *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 84. (1971). Page: 4460-4464.
- Fetzner, S. and F. Lingens,. *Bacterial dehalogenases: Biochemistry, genetics and biotechnological applications*. Microbiol. Rev., 58 (1994): 641-685.

- Gaffar, Sharbani. *Buku Ajar Bioteknologi Molekul*. Jurusan Kimia FMIPA: Universitas Padjajaran, 2007.
- Granum PE dan Lund T. 1997. *Bacillus cereus* and its food poisoning toxins FEMS Microbiology Letters 157 (1997). p: 223-228.
- Hadietomo RS. *Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek: Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium*. Jakarta: PT Gramedia, 1993.
- Hanafiah, kemas Ali, dkk. *Biologi Tanah, Ekologi dan Mikrobiologi Tanah*. Jakarta: Raja Grafindo Persada, 2005.
- Han, X. Y., Pham, A.S., Tarrand, J.J., Sood, P. K., & Luthra, R. Rapid And Accurate Identification of Mycobacteria by Sequencing hypervariable Regions of The 16S ribosomal RNA Gene. *Am J Clin Pathol*, 118 (2002): 796-801.
- Herbicide Manual for Agricultural Profesional. . *Herbicide Site Of Action and Injury Symptoms*. Iowa State Unuiversity Extension. (2005).
- Hill, K.E., J.R. Marchesi and A.J. Weightman, "Investigation of two evolutionary unrelated halocarboxylic acid dehalogenase gene families. *J. Bacteriol*", 181 (1999). : 2535-2547.
- Huyop, F,Z. Ronald A. Cooper." A Potential Use Of Dehalogenase D (Dehd) From Rhizobium Sp. For Industrial Process". Malaysia: *Jurnal Teknologi* 38 (Juni 2003): 69-75.
- Huyop, Fahrul. Suhailysa, M. Roswanira Ab.W. "Degradation of 3-chloropropionic Acid (3CP) by *Pseudoonas sp.* B6P Isolated from a Rice Paddy Field". Malaysia: *Annals of Mikrobiology*. 59 (3). (Juli 2009): 447-451
- Huyop, F,Z. Yusn, T,Y. Ismail, M.Wahab R,A. Cooper, R,A. "Overexpression and characterisation of non-stereospecific haloacid Dehalogenase E (DehE) of Rhizobium sp." Malaysia: *Asia Pacific Journal of Molecular Biology and Biotechnology*. 14. (2004). p: 15-20.
- Jatmiko, S.Y., Harsanti S., Sarwoto, dan A.N. Ardiwinata. 2002. Apakah herbisida yang digunakan cukup aman? hlm. 337-348. Dalam J. Soejitno, I.J. Sasa, dan Hermanto (Ed.). *Prosiding Seminar Nasional Membangun Sistem Produksi Tanaman Pangan Berwawasan Lingkungan*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan, Bogor. Kurihara,T. "A mechanistic analysis of enzymatic degradation of organohalogen compounds". *Biosci. Biotechnol. Biochem*. 75 (2011) : 189-198.

- Joshi Mohini dan Deshpande J.D. "Polymerase Chain Reaction: Methods, Principles And Application". India: *International Journal of Biomedical Research*. 1. No. 5. (2010). p: (81-97).
- Lestari.A.A. "Identifikasi Bakteri Yang Terdapat Pada Saliva Anjing Ras Pitbull". *Skripsi*. Makassar: Fakultas Sains Dan Teknologi Uin Alauddin Makassar. 2018. h. 46
- Löffler F, Müller R. & Lingens F.;. "Purification and properties of 4-halobenzoate-coenzyme A ligase from *Pseudomonas* sp. CBS3". *Hoppe-Seyler's Zeitschrift für Physiologische Chemie* 373 (1992): 1001-1007.
- Loos, M.A. "Phenoxyacetic acids. In : Kearney, P.C. & Kaufmann, PP. *Herbicides: their Chemistry, Degradation and mode of Action* 1. (1975). 34-57.
- Kementrian Agama RI. *Alquran dan Terjemahnya*. Jakarta: Widya Cahaya, 2011
- Madigan M T, Martinko J M, Parker J. 1997. *Brock, the Biology of Microorganisms* 8th Edition. Prentice Hall. Upper Saddle River. New Jersey.
- Mashitah Md. Salim, D.D. Roslan and F. Huyop. "Molecular Analysis of Dehalogenase Gene in Genomic DNA of *Bacillus megaterium* Strain GS1 Isolated from Volcanic Area Gunung Sibayak". *Journal of Biological Sciences*. 11 (November 2011): 394-398.
- Moon, S.H. and S.J. Parulekar. *Some Observation on Protease Producing in Continuous Suspension Cultures of Bacillus firmus*. Biotech, Bioeng, (1993) 41:43-54.
- Muladno. *Seputar Teknologi rekayas Genetika*. Bogor: Pustaka Wirausaha Muda, 2002.
- Murray RK, Granner DK, dan Rodwell VW. *Biokimia*. Jakarta: EGC, 2003.
- Narita V, Arum AL, Siti IM, dan Fawzya NY. "Analisis Bioinformatika Berbasis WEB untuk Eksplorasi Enzim Kitosanase Berdasarkan Kemiripan Sekuens". *Jurnal Al-Azhar Indonesia Seri Sains Dan Teknologi*. 1 no. 4 (September 2012): 197-203.
- Ng Hong Jing. Fahrul H. "Enzymatic Dehalogenation of 2,2-Dichloropropionic Acid by Locally Isolated *Methylobacterium* sp. HJ1. Malaysia: *Journal of Biological Sciences*". 8. 1. (2008). p: 233-235.

- Novel, Sinta Sasika, Dr. (Eng) Sukma Nuswantara, dan Dra. Supartini Syarif. *Genetika Laboratorium*. Bandung: CV. Trans Info Media, 2010.
- Nurhayati. Khairul A. *Kinetika Biodegradasi 2-Metil-4-Klor Fenoksi Asetat Formula oleh Bakteri*. Semarang: Laporan Penelitian. (2004).
- Nurhayati. “Uji Ketahanan Bakteri Dehalogenasi pada Subtrat Herbisida KMCPA Formula”. Semarang: BIOMA. 10. No. 1 (Juni 2008): 30-35.
- Oskay, M., Üsame, T. A., & Cem, A. (2004). Antibacterial activity of some Actinomycet isolated from farming soils of Turkey. *African Journal of Biotechnology* Vol. 3 (9): 446, September 2004. ISSN 1684–5315 © 2004 Academic JournalsPangastuti, Artini. 2006. Review Definisi Spesies Prokaryota Berdasarkan UrutanBasa Gen Penyandi 16S rRNA dan Gen Penyandi Protein. *Jurnal ISSN: 1412-033X*, 292-296.
- Pandey, A., Imran, A, Butola, K.S., Chatterji, T., Singh, V. “Isolation and Characterization of Actinomycet From Soil and Evaluation of Antibacterial Activities of Actinomycet Against Pathogens”. *International Journal of Applied Biology and Evaluation of Antibacterial Activities of Actinomycet Against Pathogen*. 2.4. (2011).
- Pelazar,Mj dan E.C.S Chan. *Dasar-dasar Mikrobiologi*.Jakarta : Universitas Indonesia Press. 1986.
- Permatasari, Mia. *Peningkatan Stabilitas Enzim Selulase Dari Bakteri Bacillus Subtilis ITBCCB148 Dengan Amobilisasi Menggunakan Zeolit*. Lampung: Skripsi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung. (2018).
- Riadi, Muhammad. Mata Kuliah : *Herbisida Dan Aplikasinya*. Jurusan Budidaya Pertanian. Fakultas Pertanian Universitas Hasanuddin. (2011).
- Sari IP. “Analisis Keragaman Genetik Bakteri Endofitik dan Filosfer Padi dengan Teknik ARDRA (Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis)”. *Skripsi*. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam IPB, 2006.
- Sembodo, D.R.J. *Gulma dan Pengelolaannya*. Yogyakarta: Graha Ilmu.166 hlm. 2010.
- Sfetsas. Ratnaningsih, E. “Cloning of haloacid dehalogenase gene from *Bacillus cereus* local strain with the addition of restriction site”.*Procedia Chemistry*. 16. (2015). p: 314-320.

- Shihab, M Quraish. *Tafsir Al-Misbah: Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Qur'an*. Jakarta: Lentera Hati, 2003.
- Shimizu, M. "Chapter 11: Endofitic Actinomycet: Biocontrol Agent dan Growth Promoter. Bacteria in Agrobiology: Plant Growth Responses". *Springer-Verlag Berlin Heidelberg* (2011).
- Singleton P. *Bacteria in Biology, Biotechnology and Medicine*. 3rd Edition. New York: John Wiley and Sons, 1995.
- Skou Torben dan Sogaard Jensen Gunnar. *Microbiologi*. Forfatteren OgSysteme: England.(2007).
- Slater; J.H; Bull, A.T.; & D.J. Hardman; 1995. Microbial dehalogenation. *Biodegradation* 6. 181-189.
- Slater, J.H., A.T. Bull, D.J. Hardman,. *Microbial dehalogenation*. *Biodegradation*, 6 (1995) p:181-189.
- Soerjandono, Noeriwan B. "Teknik Pengendalian Gulma dengan Herbisida Persistensi Rendah pada Tanaman Padi". *Buletin Teknik Pertanian* 10. 1. (2005). Hal: 8.
- Stansfield, Wiliam, Raul Cand dan Jaime Colome. *Biologi Molekuler dan Sel*. Jakarta: Erlangga, 2006.
- Suhaeni, Syakur A. "Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat Dange Asal Kabupaten Enrekang Sulawesi Selatan". *Biogenesis Jurnal Ilmiah Biologi*. Makassar: Program studi Biologi, Fakultas Sains, Universitas Cokroaminoto Palopo. 4. 2. (Desember 2016). hal: 79-83.
- Sukmana, Yernelis. *Gulma Dan Teknik Pengendaliannya*. Jakarta: Pt Raja Grafindo Persada. 2000.
- Sukmana Widi, *Studi Daya Adsorpsi Organoclay Tapanuli Terhadap Senyawa Herbisida 2,4-D Dimetil Amina*. Skripsi. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Program Studi Kimia Depok. (2012).
- Sulaeman.E. "Eksplorasi Bakteri Pendegradasi Insektisida Klorpirifos Di Lahan Sayuran Kubis Jawa Barat ". *Skripsi*. Bogor: Sekolah Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor. (2016). h: 32.
- Suyasa, W.B. "Isolasi Bakteri Pendegradasi Minyak/Lemak dari Beberapa Sedimen Perairan Tercemar dan Bak Pengolahan Limbah". *Jurnal Bumi Lestari* 7. 2 (2007) hal: 39-42.

- Tajkarimi Mehrdad. *Bacillus cereus*. Materials from Maha Hajmeer. PHR 250. (2007). p: 1-6.
- Tahya, C.Y., Ratnaningsih, E.. “Cloning and sequencing of haloacid dehalogenase gene from *Klebsiella pneumonia*”. ITB: *Procedia Chemistry*. 16. (2015). p (121-128).
- Thompson. I.P., Christopher J.V., Lena C., Andrew C.S. “Bioaugmentation for Bioremediation: the Challenge of Strain Selection, *Environmental Microbiology* 7. 7 (2005) page: 909-915.
- Tjitrosoedirdjo, S., I. H. Utomo, dan J. Wiroatmojo. *Pengelolaan Gulma di Perkebunan*. Jakarta : Gramedia. (1984). 207 hlm.
- Torz, Maciej. Beschkov, Venko. “Biodegradation of monochloroacetic acid used as a sole carbon and energy source by *Xanthobacter autotrophicus* GJ10 strain ini batch and continuous culture”. *Biodegradation*. 16. (2005). p (423-433).
- Watson, J.D., T.A. Baker, S.P. Bell, A. Gann, M. Levine, & R. Losick. 2004.
- Molecular Biology of The Gene. 5th edition. Benjamin Cumming. P. 681-683. Weising K, Nybom H, Wolff K, and Kahl G. *DNA Fingerprinting in Plants; Principles, Methods, and Applications*. 2nd Edition, Boca Raton (US): CRC Press, 2005.
- Yuwono, T. *Biologi Molekular*. Jakarta: Erlangga, 2005.
- Yuwono, T. teori dan Aplikasi: PCR. Yogyakarta: Penerbit Andi, 2006.
- Wulandari, Rita. Analisis Gen 16 rRNA pada Bakteri Penghasil Enzim Fitase. Tidak diterbitkan: *Tesis*. Surakarta: Universitas Sebelas Maret, 2015.
- Zimdahl, Robert L. *Fundamentals Of Weed Science (Third Edition)*. Departemant Of Bioagricultural Science And Pest Management. Colorado State University. (2007).

LAMPIRAN 1. GAMBAR SAMPEL TANAH



Keterangan :

Gambar sampel tanah sawah sekitar BTN Cita Alam Lestari Kel. Romang Polong, Kec. Somba Opu, Kab. Gowa.

LAMPIRAN 2. DIAGRAM STERILISASI ALAT

Menyiapkan alat gelas yang akan disterilisasi seperti tabung reaksi, cawan petri, *erlenmeyer* 250 ml, gelas ukur 100 ml, gelas baker (250ml dan 50 ml).

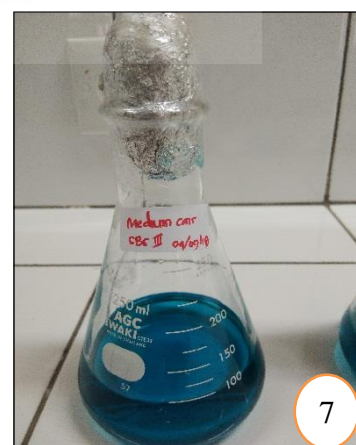
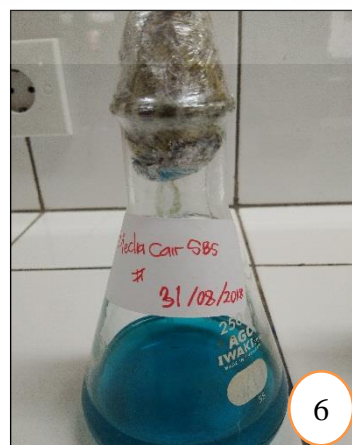
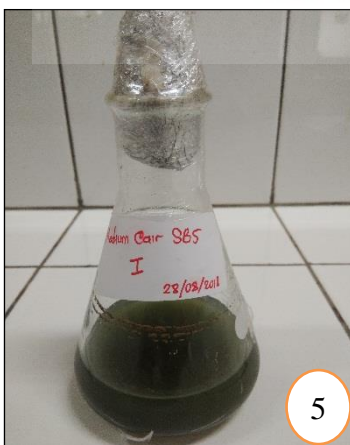
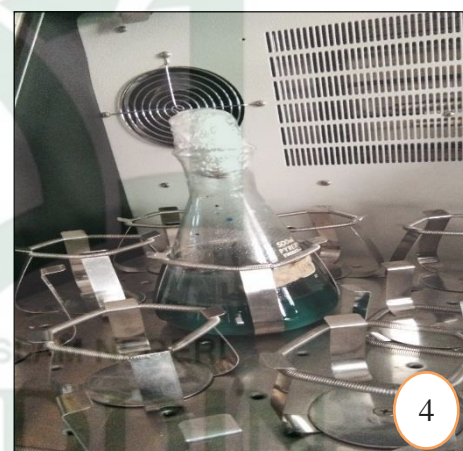
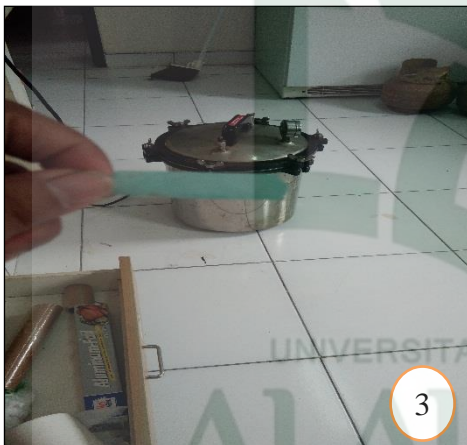


Selanjutnya alat gelas dicuci dan dieringkan, kemudian dibungkus menggunakan kertas bekas.



Dimasukkan kedalam oven dan disterilisasi dengan suhu 180°C selama 2 jam

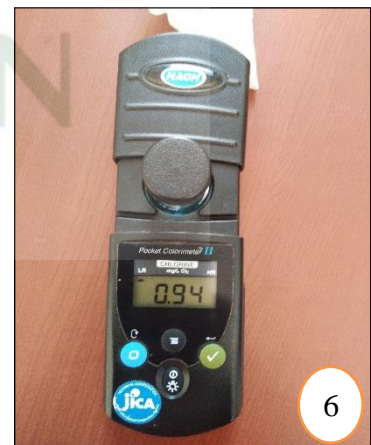
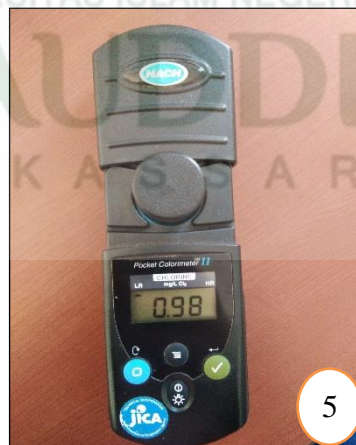
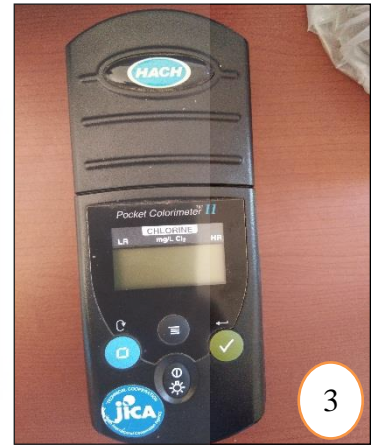
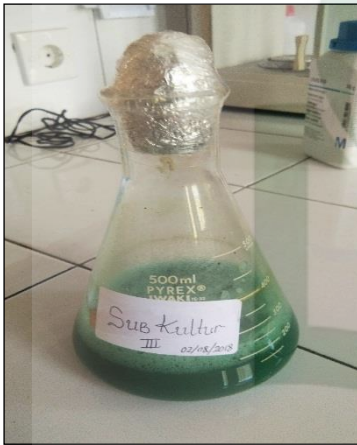
**LAMPIRAN 3. GAMBAR PREPARASI MEDIUM CAIR BASAL GARAM
SBS (SOLUTIONS BASE SALT)**



Keterangan :

1. Mencampur semua komposisi media SBS (*Solution Base Salt*) ditambah herbisida DMA6 (2,4-D Dimetil Amina).
2. Media dimasukkan kedalam labu Erlenmeyer 250 ml
3. Media diautoklaf
4. Media ditambahkan sampel tanah dan dinkubasi selama 3 hari didalam incubator shaker,
5. Medium cair SBS (*Solution Base Salt*) sub kultur I
6. Medium cair SBS (*Solution Base Salt*) sub kultur II
7. Medium cair SBS (*Solution Base Salt*) sub kultur III

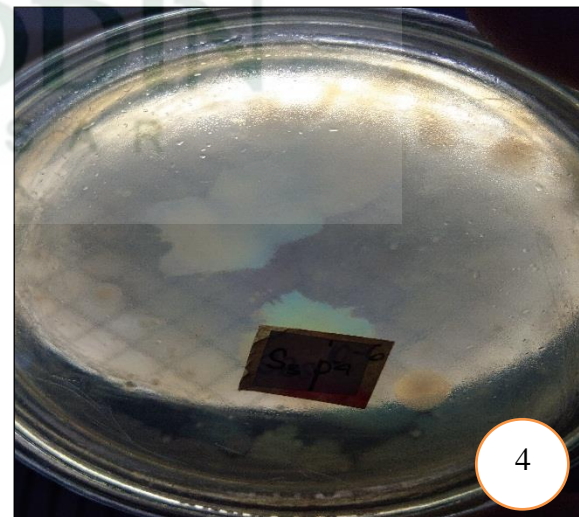
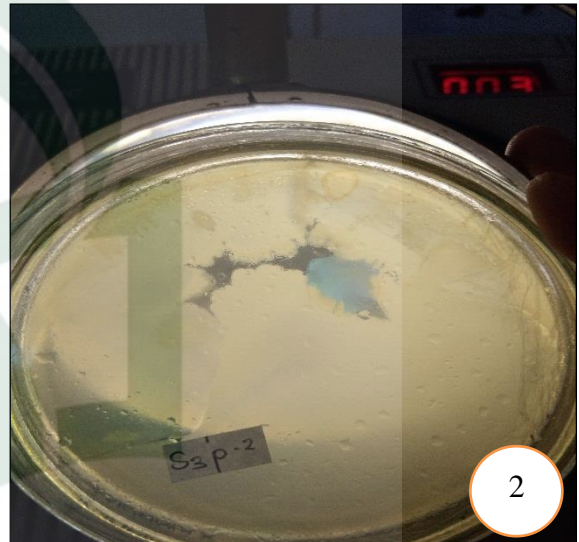
LAMPIRAN. 4 PENGUKURAN PELEPASAN KLOORIN

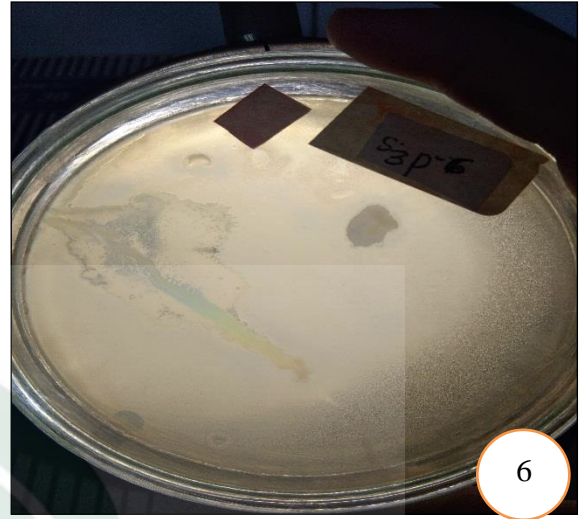
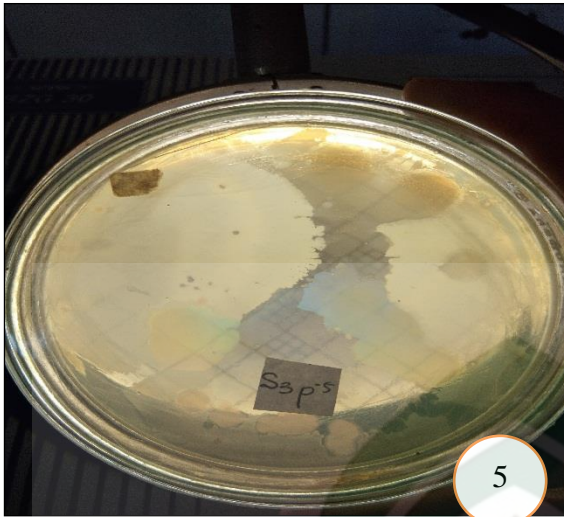


Keterangan :

1. Sampel bakteri sub kultur I
2. Diambil 10 ml kemudian dimasukkan kedalam botol
3. Sampel diukur menggunakan klorimeter
4. Hasil pelepasan klor sampel bakteri sub kultur I
5. Hasil pelepasan klor sampel bakteri sub kultur II
6. Hasil pelepasan klor sampel bakteri sub kultur III

**LAMPIRAN 5. GAMBAR HASIL ISOLASI BAKTERI PADA MEDIA NA
(NUTRIENT AGAR) MELALUI SERI PENGENCERAN BERTINGKAT**



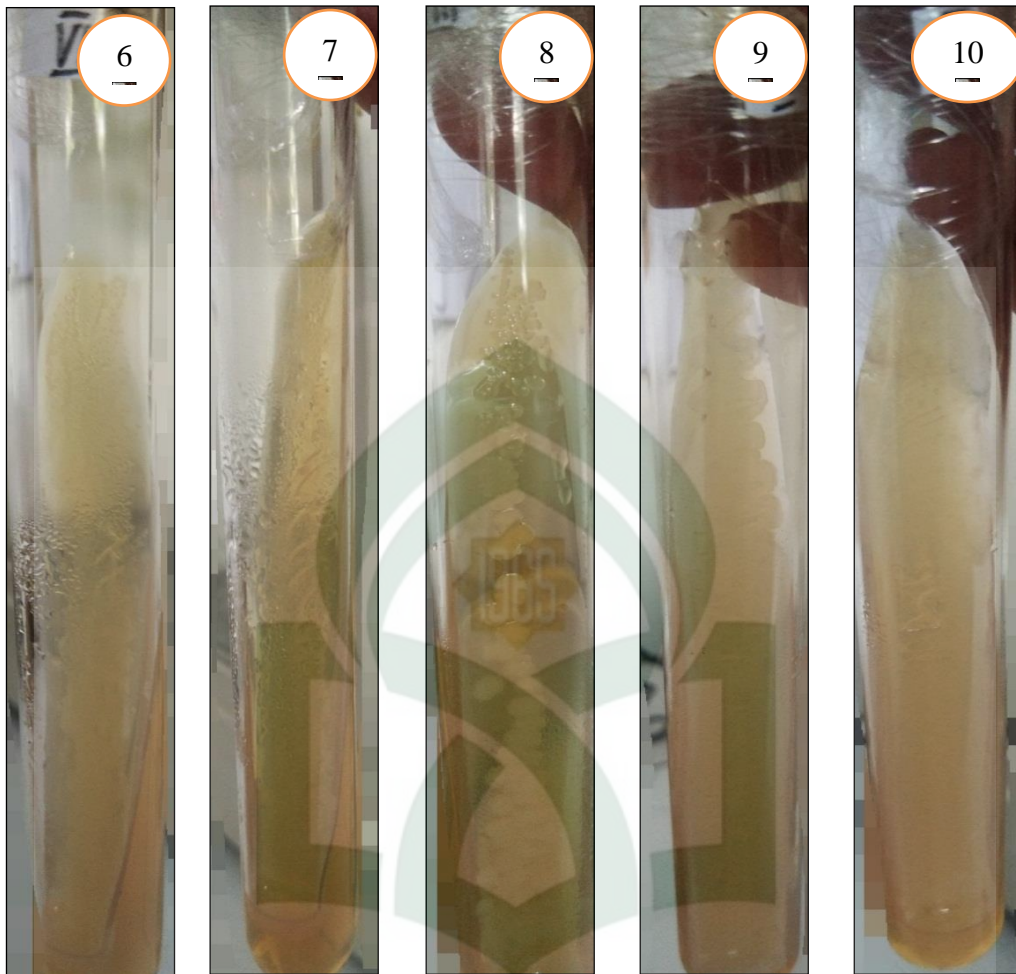


Keterangan:

1. Sub kultur 3 pengenceran tingkat 10^{-1}
2. Sub kultur 3 pengenceran tingkat 10^{-2}
3. Sub kultur 3 pengenceran tingkat 10^{-3}
4. Sub kultur 3 pengenceran tingkat 10^{-4}
5. Sub kultur 3 pengenceran tingkat 10^{-5}
6. Sub kultur 3 pengenceran tingkat 10^{-6}
7. Sub kultur 3 pengenceran tingkat 10^{-7}

**LAMPIRAN 6. GAMBAR ISOLASI BAKTERI PADA MEDIA PADAT NA
(*NUTRIENT AGAR*) MIRING**

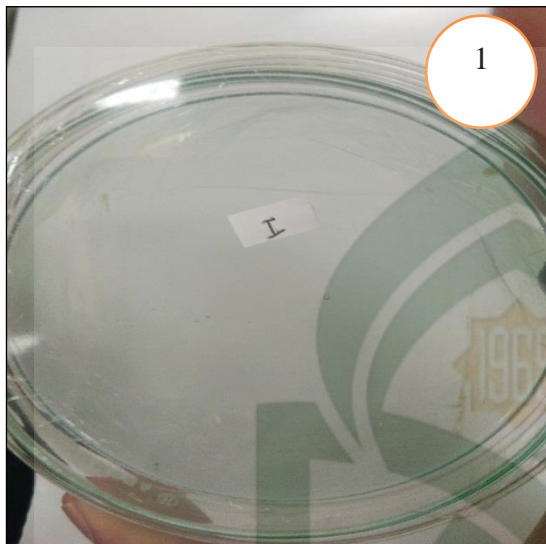


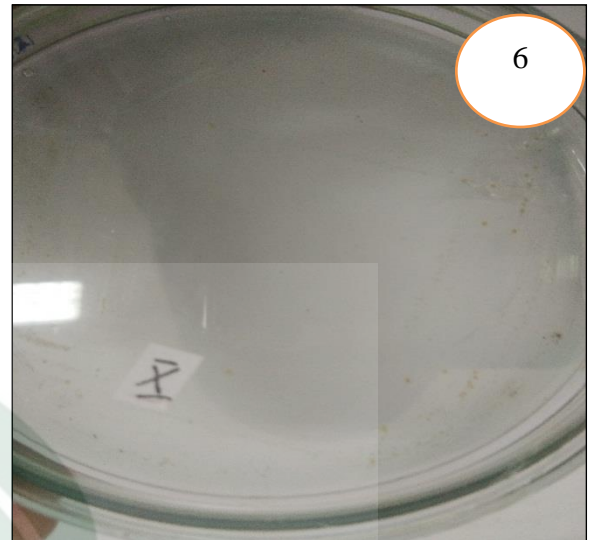


Keterangan:

1. Koloni I
2. Koloni II
3. Koloni III
4. Koloni IV
5. Koloni V
6. Koloni VI
7. Koloni VII
8. Koloni VIII
9. Koloni IX
10. Koloni X

**LAMPIRAN 7. GAMBAR ISOLASI DAN PEMELIHARAAN BAKTERI
PENGHASIL ENZIM DEHALOGENASE MENGGUNAKAN MEDIA PADAT
SBS (*SOLUTION BASE SALT*) DENGAN SUBSTRAT HERBISIDA DMA6
(2,4-D DIMETIL AMINA)**



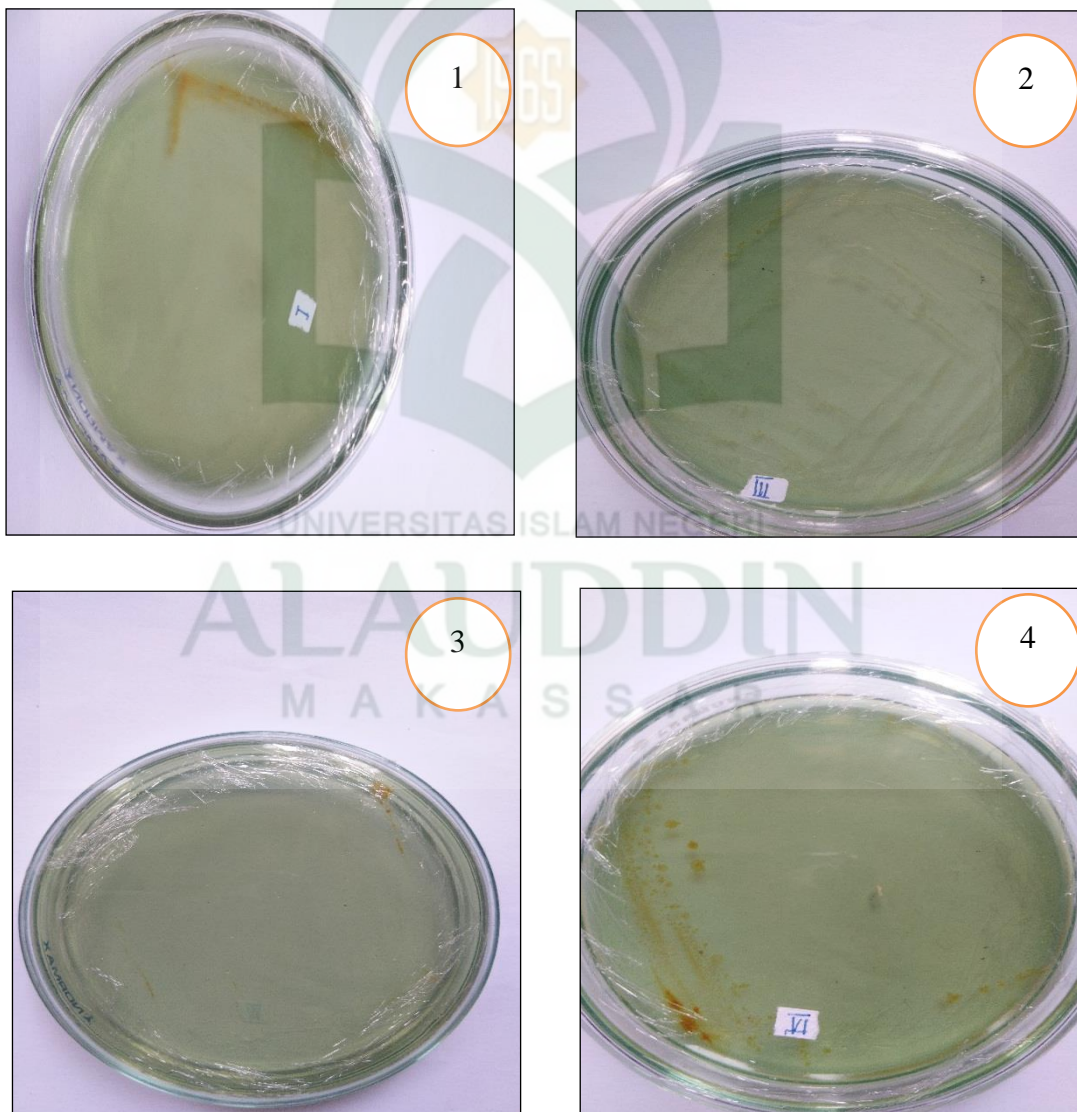


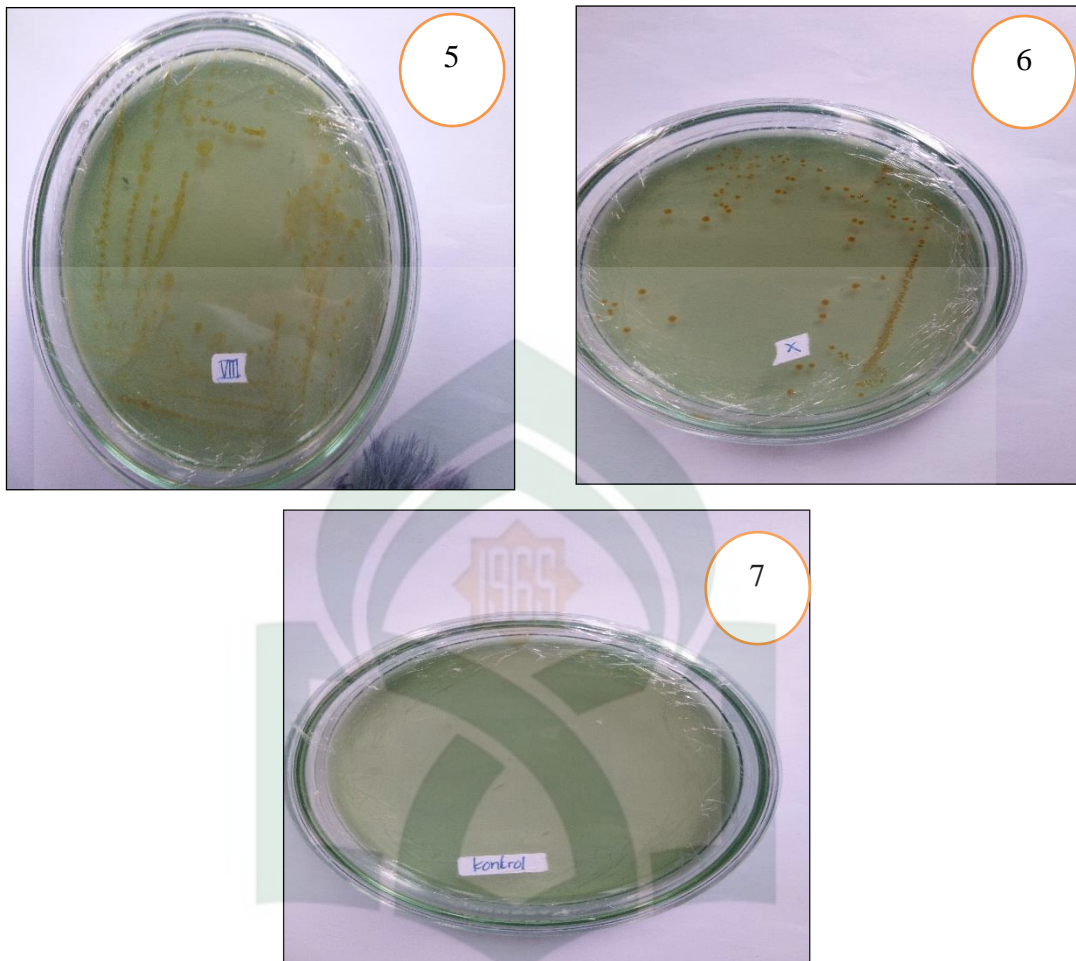
Keterangan:

1. Koloni I pada media SBS (*Solution Base Salt*) ditambah herbisida DMA6 (2,4-D Dimetil amina) 0.173 ml
2. Koloni III pada media SBS (*Solution Base Salt*) ditambah herbisida DMA6 (2,4-D Dimetil amina) 0.173 ml
3. Koloni IV pada media SBS (*Solution Base Salt*) ditambah herbisida DMA6 (2,4-D Dimetil amina) 0.173 ml
4. Koloni VI pada media SBS (*Solution Base Salt*) ditambah herbisida DMA6 (2,4-D Dimetil amina) 0.173 ml

5. Koloni VIII pada media SBS (*Solution Base Salt*) ditambah herbisida DMA6 (2,4-D Dimetil amina) 0.173 ml
6. Koloni X pada media SBS (*Solution Base Salt*) ditambah herbisida DMA6 (2,4-D Dimetil amina) 0.173 ml
7. Media SBS (*Solution Base Salt*) ditambah herbisida DMA6 (2,4-D Dimetil amina) 0.173 ml tanpa bakteri.

LAMPIRAN 8. GAMBAR HASIL SELEKSI BAKTERI PENGHASIL ENZIM DEHALOGENASE PADA MEDIA INDIKATOR SBS (*SOLUTION BASE SALT*) DITAMBAH BTB (*BROMTHYMOL BLUE*)

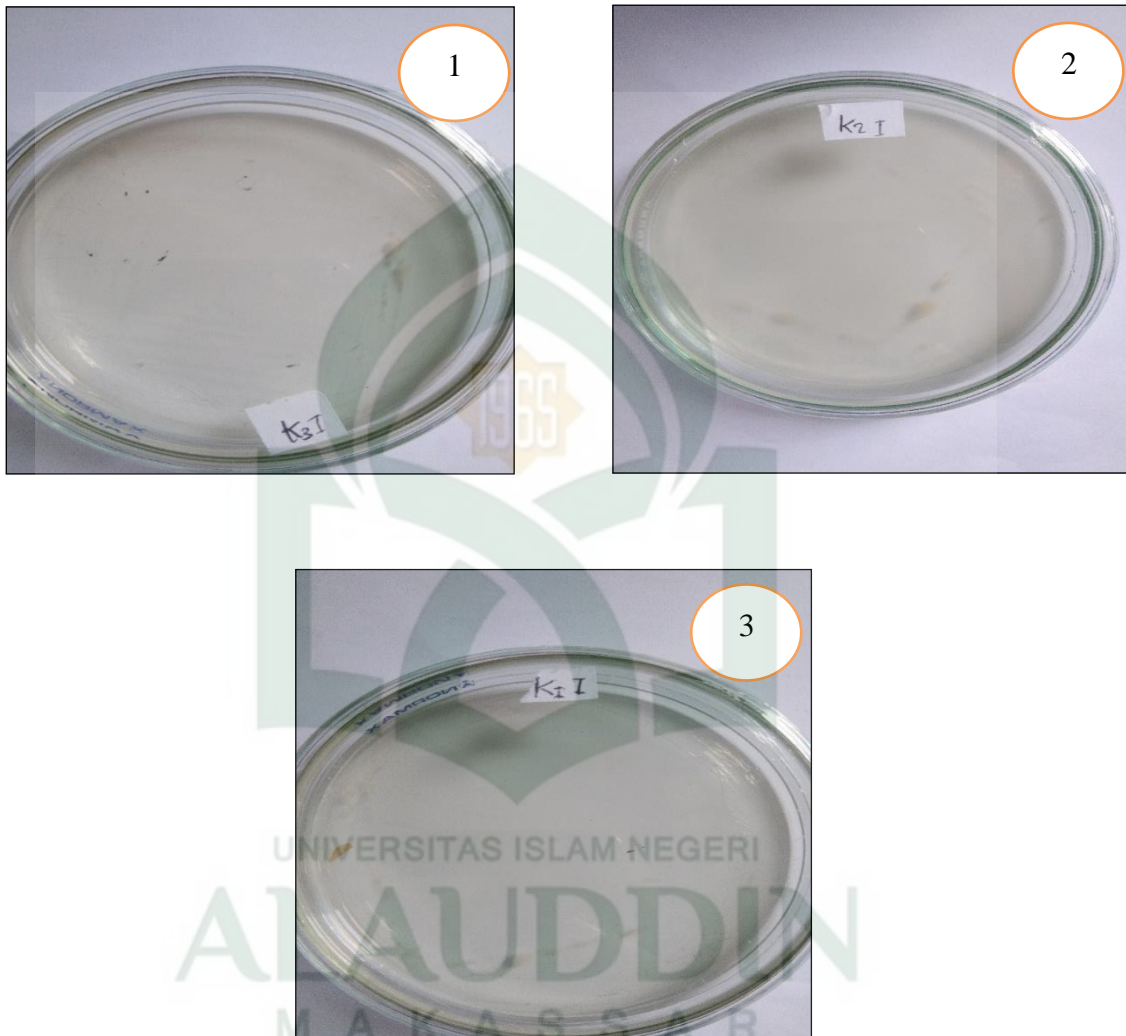




Keterangan:

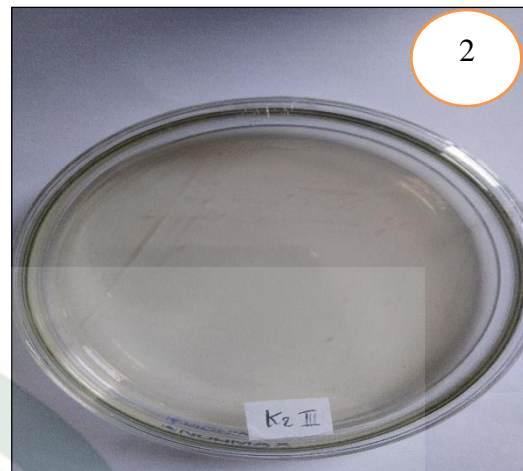
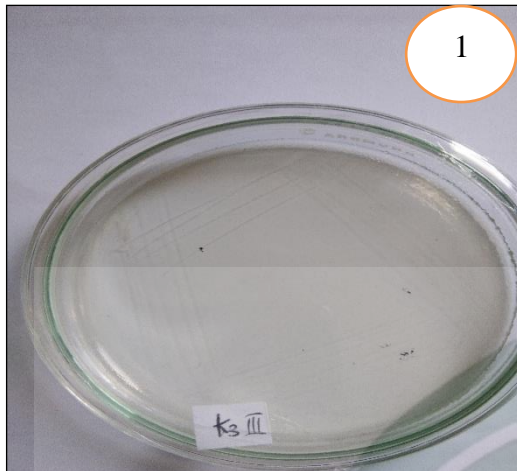
1. Koloni I pada media SBS (*Solution Base Salt*) ditambah herbisida DMA6 (2,4-D dimetil amina) dan BTB (*Bromthymol Blue*).
2. Koloni III pada media SBS (*Solution Base Salt*) ditambah herbisida DMA6 (2,4-D dimetil amina) dan BTB (*Bromthymol Blue*).
3. Koloni IV pada media SBS (*Solution Base Salt*) ditambah herbisida DMA6 (2,4-D dimetil amina) dan BTB (*Bromthymol Blue*).
4. Koloni VI pada media SBS (*Solution Base Salt*) ditambah herbisida DMA6 (2,4-D dimetil amina) dan BTB (*Bromthymol Blue*).
5. Koloni VIII pada media SBS (*Solution Base Salt*) ditambah herbisida DMA6 (2,4-D dimetil amina) dan BTB (*Bromthymol Blue*).
6. Koloni X pada media SBS (*Solution Base Salt*) ditambah herbisida DMA6 (2,4-D dimetil amina) dan BTB (*Bromthymol Blue*).
7. Media SBS (*Solution Base Salt*) ditambah herbisida DMA6 (2,4-D dimetil amina) dan BTB (*Bromthymol Blue*) tanpa bakteri.

LAMPIRAN 9. GAMBAR HASIL SELEKSI BAKTERI DEHALOGENASI PADA BERBAGAI KONSENTRASI HERBISIDA DMA6 (2,4-D DIMETIL AMINA).



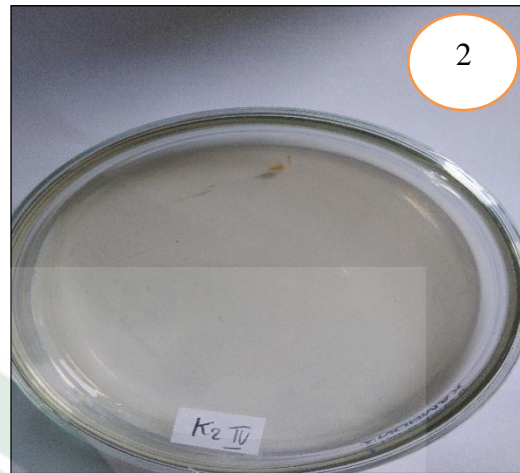
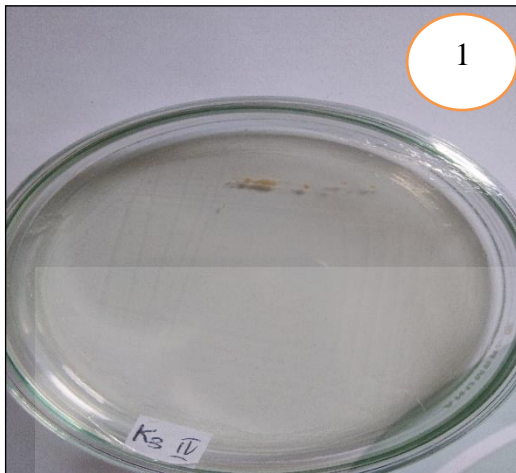
Keterangan :

1. Koloni I pada media SBS (*Solution Base Salt*) ditambah substrat herbisida DMA6 (2,4-D dimetil amina) 0,173ml.
2. Koloni I pada media SBS (*Solution Base Salt*) ditambah substrat herbisida DMA6 (2,4-D dimetil amina) 0,346 ml.
3. Koloni I pada media SBS (*Solution Base Salt*) ditambah substrat herbisida DMA6 (2,4-D dimetil amina) 0,173ml.



Keterangan :

1. Koloni III pada media SBS (*Solution Base Salt*) ditambah substrat herbisida DMA6 (2,4-D dimetil amina) 0,173ml.
2. Koloni III pada media SBS (*Solution Base Salt*) ditambah substrat herbisida DMA6 (2,4-D dimetil amina) 0,346 ml.
3. Koloni III pada media SBS (*Solution Base Salt*) ditambah substrat herbisida DMA6 (2,4-D dimetil amina) 0,173ml.



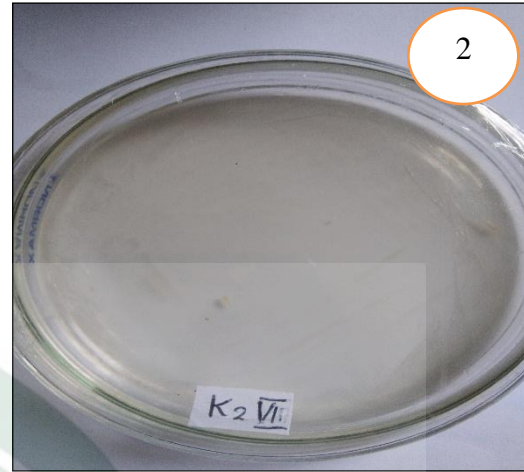
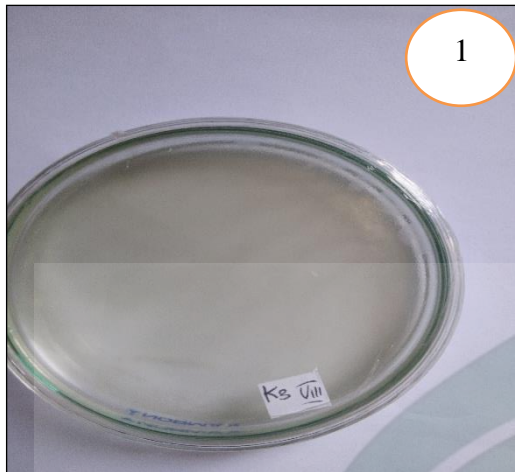
Keterangan :

1. Koloni IV pada media SBS (*Solution Base Salt*) ditambah substrat herbisida DMA6 (2,4-D dimetil amina) 0,173ml.
2. Koloni IV pada media SBS (*Solution Base Salt*) ditambah substrat herbisida DMA6 (2,4-D dimetil amina) 0,346 ml.
3. Koloni IV pada media SBS (*Solution Base Salt*) ditambah substrat herbisida DMA6 (2,4-D dimetil amina) 0,173ml.
- 4.



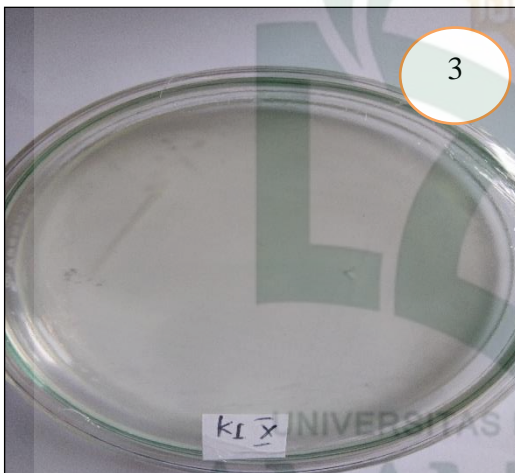
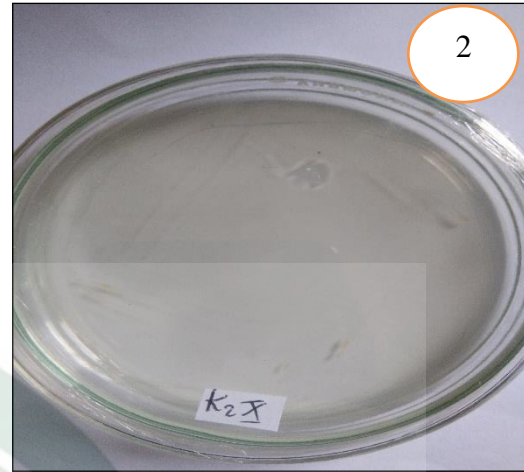
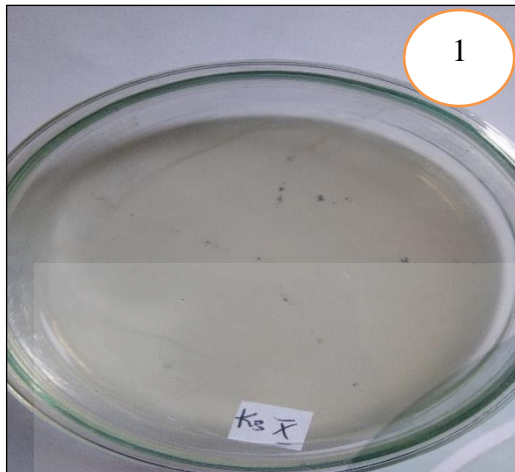
Keterangan :

1. Koloni VI pada media SBS (*Solution Base Salt*) ditambah substrat herbisida DMA6 (2,4-D dimetil amina) 0,173ml.
2. Koloni V I pada media SBS (*Solution Base Salt*) ditambah substrat herbisida DMA6 (2,4-D dimetil amina) 0,346 ml.
3. Koloni VI pada media SBS (*Solution Base Salt*) ditambah substrat herbisida DMA6 (2,4-D dimetil amina) 0,173ml.



Keterangan :

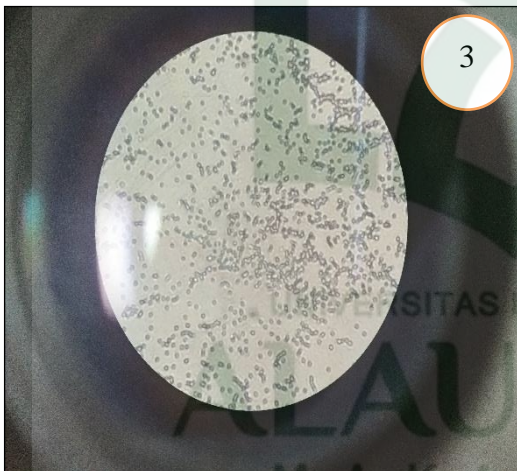
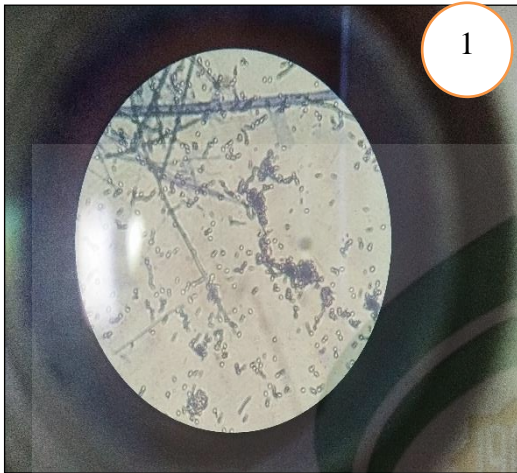
1. Koloni VIII pada media SBS (*Solution Base Salt*) ditambah substrat herbisida DMA6 (2,4-D dimetil amina) 0,173ml.
2. Koloni VIII pada media SBS (*Solution Base Salt*) ditambah substrat herbisida DMA6 (2,4-D dimetil amina) 0,346 ml.
3. Koloni VIII pada media SBS (*Solution Base Salt*) ditambah substrat herbisida DMA6 (2,4-D dimetil amina) 0,173ml.

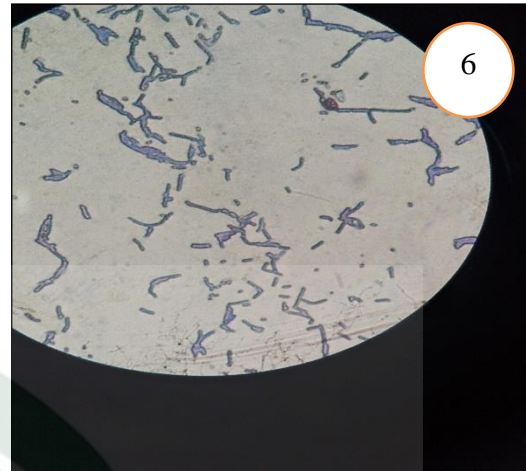
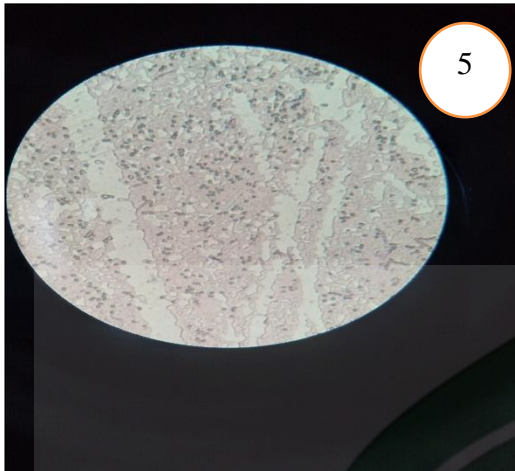


Keterangan :

1. Koloni X pada media SBS (*Solution Base Salt*) ditambah substrat herbisida DMA6 (2,4-D dimetil amina) 0,173ml.
2. Koloni X pada media SBS (*Solution Base Salt*) ditambah substrat herbisida DMA6 (2,4-D dimetil amina) 0,346 ml.
3. Koloni X pada media SBS (*Solution Base Salt*) ditambah substrat herbisida DMA6 (2,4-D dimetil amina) 0,173ml.
4. Media SBS (*Solution Base Salt*) ditambah substrat herbisida DMA6 (2,4-D dimetil amina) 0,173ml tanpa bakteri.

LAMPIRAN 10. GAMBAR HASIL PEWARNAAN GRAM

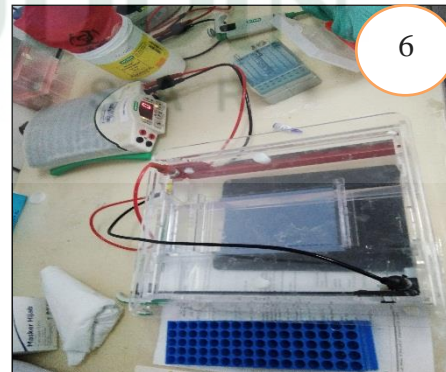
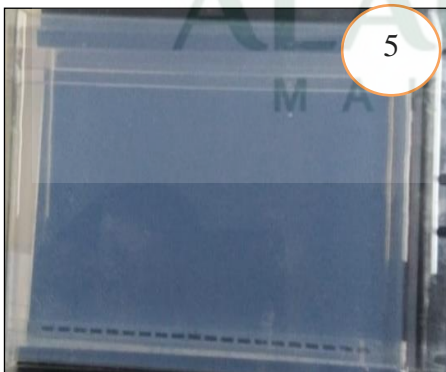
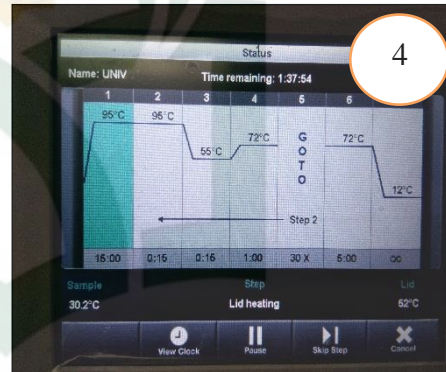
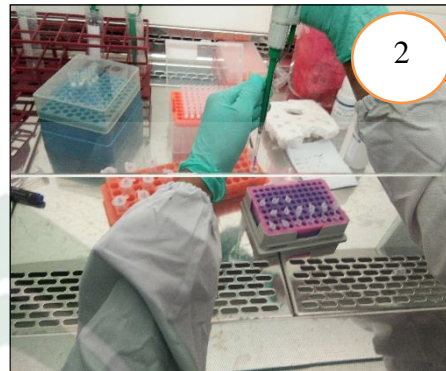


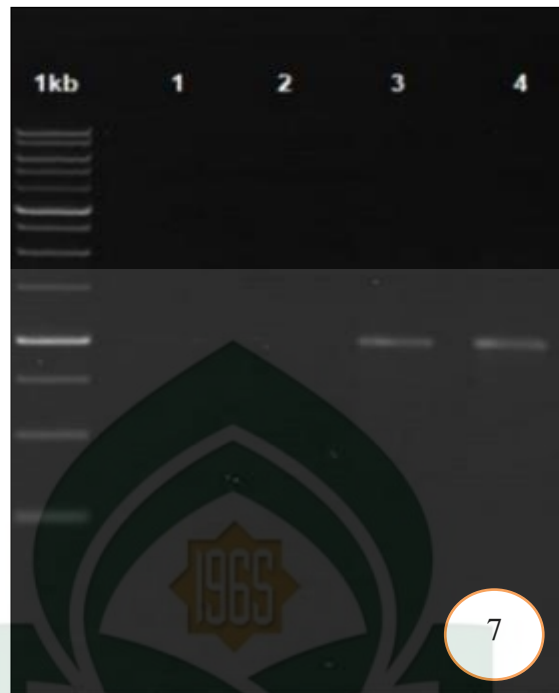


Keterangan:

1. Koloni I : Positif Basil
2. Koloni II : Positif Basil
3. Koloni IV : Negatif Basil
4. Koloni VI : Negatif Basil
5. Koloni VIII : Negatif Basil
6. Koloni X : Positif Basil

LAMPIRAN 11. GAMBAR ALUR IDENTIFIKASI MOLEKULER



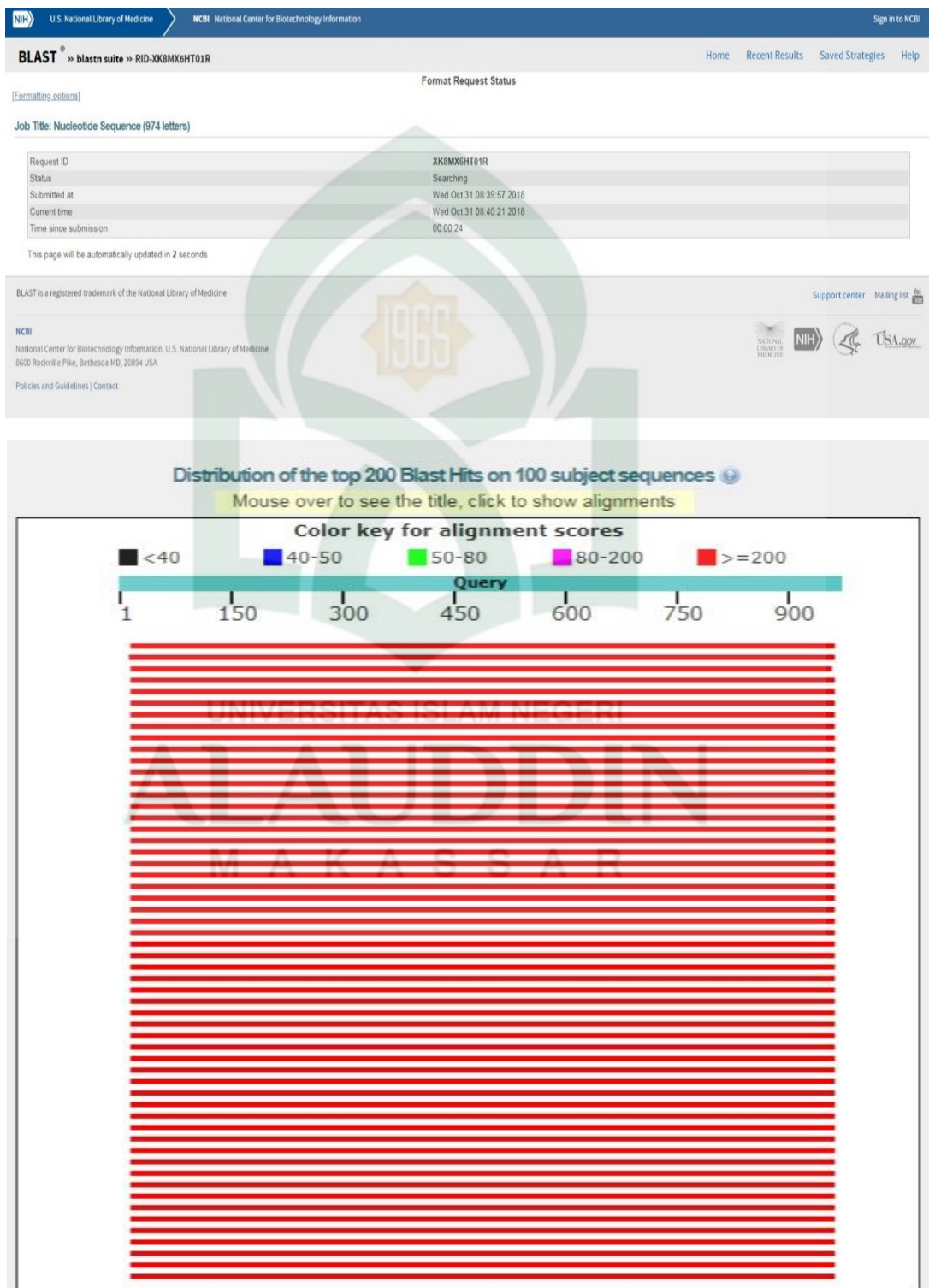


Keterangan:

1. Persiapan isolat bakteri I, IV, VI, dan X
2. Ekstraksi DNA
3. Sampel dimasukkan kedalam mesin PCR (*Polymerase Chain Reaction*)
4. Amplifikasi menggunakan PCR (*Polymerase Chain Reaction*) (DNA thermal Cycler).
5. Pembuatan Gel Agarosa
6. Elektroforesis
7. Hasil elektroforesis sampel

LAMPIRAN 12. GAMBAR HASIL ANALISIS SEKUENSING

1. Hasil Sekuensing isolat bakteri VI



Sequences producing significant alignments:

Select: [All](#) [None](#) Selected:0

Alignments		Download	GenBank	Graphics	Distance tree of results		
	Descript	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
<input checked="" type="checkbox"/>	Bacillus cereus strain M13, complete genome	1698	22004	97%	0.0	99%	CP016360.1
<input type="checkbox"/>	Bacillus thuringiensis strain DW-1T 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1696	1696	97%	0.0	99%	EU240956.1
<input type="checkbox"/>	[Streptomyces] sp. LCB58 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1694	1694	97%	0.0	99%	FJ867930.1
<input type="checkbox"/>	Bacillus sp. (in: Bacteria) strain MS3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1692	1692	97%	0.0	99%	MH699239.1
<input type="checkbox"/>	Bacillus cereus strain FC2979 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1692	1692	97%	0.0	99%	MH532488.1
<input type="checkbox"/>	Bacillus cereus strain VLS-S-1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1692	1692	97%	0.0	99%	MH068823.1
<input type="checkbox"/>	Bacillus cereus strain ATA7_ 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1692	1692	97%	0.0	99%	MH368134.1
<input type="checkbox"/>	Bacillus cereus strain JK5 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1692	1692	97%	0.0	99%	MF490437.1
<input type="checkbox"/>	Bacillus cereus strain BAC01 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1692	1692	97%	0.0	99%	MH128361.1
<input type="checkbox"/>	Bacillus cereus strain FORC60 chromosome, complete genome	1692	23686	97%	0.0	99%	CP020383.1
<input type="checkbox"/>	Bacillus cereus strain TG1-6 chromosome, complete genome	1692	23674	97%	0.0	99%	CP026678.1
<input type="checkbox"/>	Bacillus sp. FDAARGOS_235 chromosome, complete genome	1692	23663	97%	0.0	99%	CP020437.2
<input type="checkbox"/>	Bacillus thuringiensis serovar israelensis strain VCRC B-17 16S ribosomal RNA gene, complete sequence	1692	1692	97%	0.0	99%	MG745385.1
<input type="checkbox"/>	Bacillus sp. HBCD-situ chromosome, complete genome	1692	21865	97%	0.0	99%	CP025122.1
<input type="checkbox"/>	Bacillus cereus strain MLY1 chromosome MLY1.0, complete sequence	1692	26999	97%	0.0	99%	CP024655.1
<input type="checkbox"/>	Bacillus thuringiensis serovar israelensis strain T0139 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1692	1692	97%	0.0	99%	MF988363.1
<input type="checkbox"/>	Bacillus cereus strain HBL-AI chromosome, complete genome	1692	23684	97%	0.0	99%	CP023245.1
<input type="checkbox"/>	Uncultured bacterium clone R1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1692	1692	97%	0.0	99%	KX859231.1
<input type="checkbox"/>	Bacillus thuringiensis strain ATCC 10792, complete genome	1692	23686	97%	0.0	99%	CP020754.1
<input type="checkbox"/>	Bacillus cereus strain UFGRB3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1692	1692	97%	0.0	99%	MF526969.1
<input type="checkbox"/>	Bacillus cereus strain UFGRB2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1692	1692	97%	0.0	99%	MF526968.1
<input type="checkbox"/>	Bacillus thuringiensis strain UFGS2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1692	1692	97%	0.0	99%	MF526967.1
<input type="checkbox"/>	Bacillus thuringiensis strain Ls 2-1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1692	1692	97%	0.0	99%	KX622785.1
<input type="checkbox"/>	Bacillus thuringiensis strain c25, complete genome	1692	23697	97%	0.0	99%	CP022345.1
<input type="checkbox"/>	Bacillus cereus strain FORC_047, complete genome	1692	23686	97%	0.0	99%	CP022345.1

Questions/com

[Questions/Comments](#)

- ☐ [Bacillus cereus strain K8, complete sequence](#)
- ☐ [Bacillus cereus strain FORC_048, complete genome](#)
- ☐ [Bacillus cereus strain D12_2, complete genome](#)
- ☐ [Bacillus thuringiensis strain BM-BT15426, complete genome](#)
- ☐ [Bacillus thuringiensis strain YGd22-03, complete genome](#)
- ☐ [Bacillus thuringiensis strain SCG04-02, complete genome](#)
- ☐ [Bacillus thuringiensis strain S2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence](#)
- ☐ [Bacillus thuringiensis strain R7 16S ribosomal RNA gene, partial sequence](#)
- ☐ [Bacillus thuringiensis strain ATCC 10792, complete genome](#)
- ☐ [Bacillus thuringiensis strain BH50 16S ribosomal RNA gene, partial sequence](#)
- ☐ [Bacillus thuringiensis strain BH32 16S ribosomal RNA gene, partial sequence](#)
- ☐ [Bacillus thuringiensis strain BH40 16S ribosomal RNA gene, partial sequence](#)
- ☐ [Bacillus thuringiensis strain L-7601, complete genome](#)
- ☐ [Bacillus sp. JCM 28865 gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence, strain: K8626-1b](#)
- ☐ [Bacillus sp. JCM 28855 gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence, strain: K5916-1-2b](#)
- ☐ [Bacillus sp. JCM 28854 gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence, strain: T81203-9-5b](#)
- ☐ [Bacillus sp. JCM 28851 gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence, strain: T81203-9-2b](#)
- ☐ [Bacillus sp. JCM 28849 gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence, strain: T81203-5-2b](#)
- ☐ [Bacillus sp. JCM 28846 gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence, strain: T81028-3b](#)
- ☐ [Bacillus sp. JCM 28834 gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence, strain: T7517-5-1b](#)
- ☐ [Bacillus sp. JCM 28831 gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence, strain: T7510-3-1b](#)
- ☐ [Bacillus sp. JCM 28825 gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence, strain: T7425-12-1b](#)
- ☐ [Bacillus sp. JCM 28824 gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence, strain: T7425-9-2b](#)
- ☐ [Bacillus sp. JCM 28823 gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence, strain: T7425-4-3b](#)
- ☐ [Bacillus sp. JCM 28819 gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence, strain: T7417-2-5b](#)
- ☐ [Bacillus sp. JCM 28816 gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence, strain: T7413-7-3b](#)
- ☐ [Bacillus sp. JCM 28804 gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence, strain: T7405-4-1b](#)
- ☐ [Bacillus sp. JCM 28801 gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence, strain: T61017-5-1b](#)
- ☐ [Bacillus sp. JCM 28799 gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence, strain: T61017-1-1b](#)
- ☐ [Bacillus sp. JCM 28796 gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence, strain: T6713-1-1b](#)

<input type="checkbox"/> Bacillus sp. JCM 28794 gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence, strain: T6517-2-5b	1692	1692	97%	0.0	99%	LC150625.1
<input type="checkbox"/> Bacillus sp. JCM 28791 gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence, strain: T6517-1-1b	1692	1692	97%	0.0	99%	LC150624.1
<input type="checkbox"/> Bacillus sp. JCM 28786 gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence, strain: T6220-1-1b	1692	1692	97%	0.0	99%	LC150623.1
<input type="checkbox"/> Bacillus sp. JCM 28785 gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence, strain: T5916-8-1b	1692	1692	97%	0.0	99%	LC150622.1
<input type="checkbox"/> Bacillus sp. JCM 28784 gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence, strain: T5916-6b	1692	1692	97%	0.0	99%	LC150621.1
<input type="checkbox"/> Bacillus cereus strain FORC021, complete genome	1692	23686	97%	0.0	99%	CP014486.1
<input type="checkbox"/> Bacillus thuringiensis strain SJC34 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1692	1692	97%	0.0	99%	KX301308.1
<input type="checkbox"/> Bacillus thuringiensis strain SJC11 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1692	1692	97%	0.0	99%	KX301307.1
<input type="checkbox"/> Bacillus cereus strain SD5 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1692	1692	97%	0.0	99%	KX890470.1
<input type="checkbox"/> Bacillus thuringiensis Bt18247, complete genome	1692	23691	97%	0.0	99%	CP015250.1
<input type="checkbox"/> Bacillus cereus strain FORC_024, complete genome	1692	23680	97%	0.0	99%	CP012691.1
<input type="checkbox"/> Bacillus thuringiensis gene for 16S rRNA, partial sequence, isolate: X-1	1692	1692	97%	0.0	99%	LC178545.1
<input type="checkbox"/> Bacillus thuringiensis strain KNU-07, complete genome	1692	25288	97%	0.0	99%	CP016588.1
<input type="checkbox"/> Bacillus thuringiensis strain MYBT18246, complete genome	1692	20276	97%	0.0	99%	CP015350.1
<input type="checkbox"/> Bacillus sp. B25(2016b) genome	1692	1692	97%	0.0	99%	CP016285.1
<input type="checkbox"/> Bacillus thuringiensis serovar coreanensis strain ST7, complete genome	1692	23697	97%	0.0	99%	CP016194.1
<input type="checkbox"/> Bacillus thuringiensis strain AS09 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1692	1692	97%	0.0	99%	KX101236.1
<input type="checkbox"/> Bacillus cereus strain A1, complete genome	1692	23691	97%	0.0	99%	CP015727.1
<input type="checkbox"/> Bacillus thuringiensis serovar israelensis strain AM65-52, complete genome	1692	23660	97%	0.0	99%	CP013275.1
<input type="checkbox"/> Bacillus thuringiensis serovar alesti strain BGSC 4C1, complete genome	1692	20311	97%	0.0	99%	CP015176.1
<input type="checkbox"/> Bacillus cereus strain HN001, complete genome	1692	22004	97%	0.0	99%	CP011155.1
<input type="checkbox"/> Bacillus cereus strain CMCC P0011, complete genome	1692	25349	97%	0.0	99%	CP011153.1
<input type="checkbox"/> Bacillus cereus strain CMCC P0021, complete genome	1692	27036	97%	0.0	99%	CP011151.1
<input type="checkbox"/> Bacillus cereus strain HTP03 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1692	1692	97%	0.0	99%	KX024730.1
<input type="checkbox"/> Bacillus thuringiensis strain Bc601, complete genome	1692	21993	97%	0.0	99%	CP015150.1
<input type="checkbox"/> Bacillus thuringiensis strain HD12, complete sequence	1692	21987	97%	0.0	99%	CP014847.1
<input type="checkbox"/> Bacillus cereus strain CP133 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1692	1692	97%	0.0	99%	KU312197.1
<input type="checkbox"/> Bacillus thuringiensis strain Bt185, complete genome	1692	23218	97%	0.0	99%	CP014282.1
<input type="checkbox"/> Bacillus cereus strain FSL H8-0488 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1692	1692	97%	0.0	99%	KU198624.1
<input type="checkbox"/> Bacillus cereus strain FSL H8-0482 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1692	1692	97%	0.0	99%	KU198624.1

 [Questions/comments](#)

<input type="checkbox"/> Bacillus thuringiensis strain 4916 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1692	1692	97%	0.0	99%	KT933210.1
<input type="checkbox"/> Bacillus cereus strain FORC_013, complete sequence	1692	23697	97%	0.0	99%	CP011145.1
<input type="checkbox"/> Bacillus sp. C-3-5 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1692	1692	97%	0.0	99%	KT583534.1
<input type="checkbox"/> Bacillus thuringiensis strain FS213P 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1692	1692	97%	0.0	99%	KP997272.1
<input type="checkbox"/> Bacillus thuringiensis strain FB833T 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1692	1692	97%	0.0	99%	KP997269.1
<input type="checkbox"/> Bacillus cereus strain HYM89 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1692	1692	97%	0.0	99%	KT982246.1
<input type="checkbox"/> Bacillus thuringiensis strain YWC2-8, complete genome	1692	21993	97%	0.0	99%	CP013055.1
<input type="checkbox"/> Bacillus cereus partial 16S rRNA gene, strain B88	1692	1692	97%	0.0	99%	LN890264.1
<input type="checkbox"/> Bacillus cereus partial 16S rRNA gene, strain B87	1692	1692	97%	0.0	99%	LN890263.1
<input type="checkbox"/> Bacillus cereus partial 16S rRNA gene, strain B77	1692	1692	97%	0.0	99%	LN890253.1
<input type="checkbox"/> Bacillus cereus partial 16S rRNA gene, strain B76	1692	1692	97%	0.0	99%	LN890252.1
<input type="checkbox"/> Bacillus cereus partial 16S rRNA gene, strain B66	1692	1692	97%	0.0	99%	LN890242.1
<input type="checkbox"/> Bacillus cereus partial 16S rRNA gene, strain B64	1692	1692	97%	0.0	99%	LN890240.1
<input type="checkbox"/> Bacillus cereus partial 16S rRNA gene, strain B60	1692	1692	97%	0.0	99%	LN890236.1
<input type="checkbox"/> Bacillus cereus strain KG5 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1692	1692	97%	0.0	99%	KP318029.1

2. Hasil Sekuensing isolat bakteri X

NIH U.S. National Library of Medicine NCBI National Center for Biotechnology Information Sign in to NCBI

BLAST » **blastn suite** » RID-XNNXE1GT015 Home Recent Results Saved Strategies Help

[Formatting options] Format Request Status

Job Title: Nucleotide Sequence (971 letters)

Request ID	XNNXE1GT015
Status	Searching
Submitted at	Thu Nov 1 06:38:38 2018
Current time	Thu Nov 01 06:38:58 2018
Time since submission	00:00:19

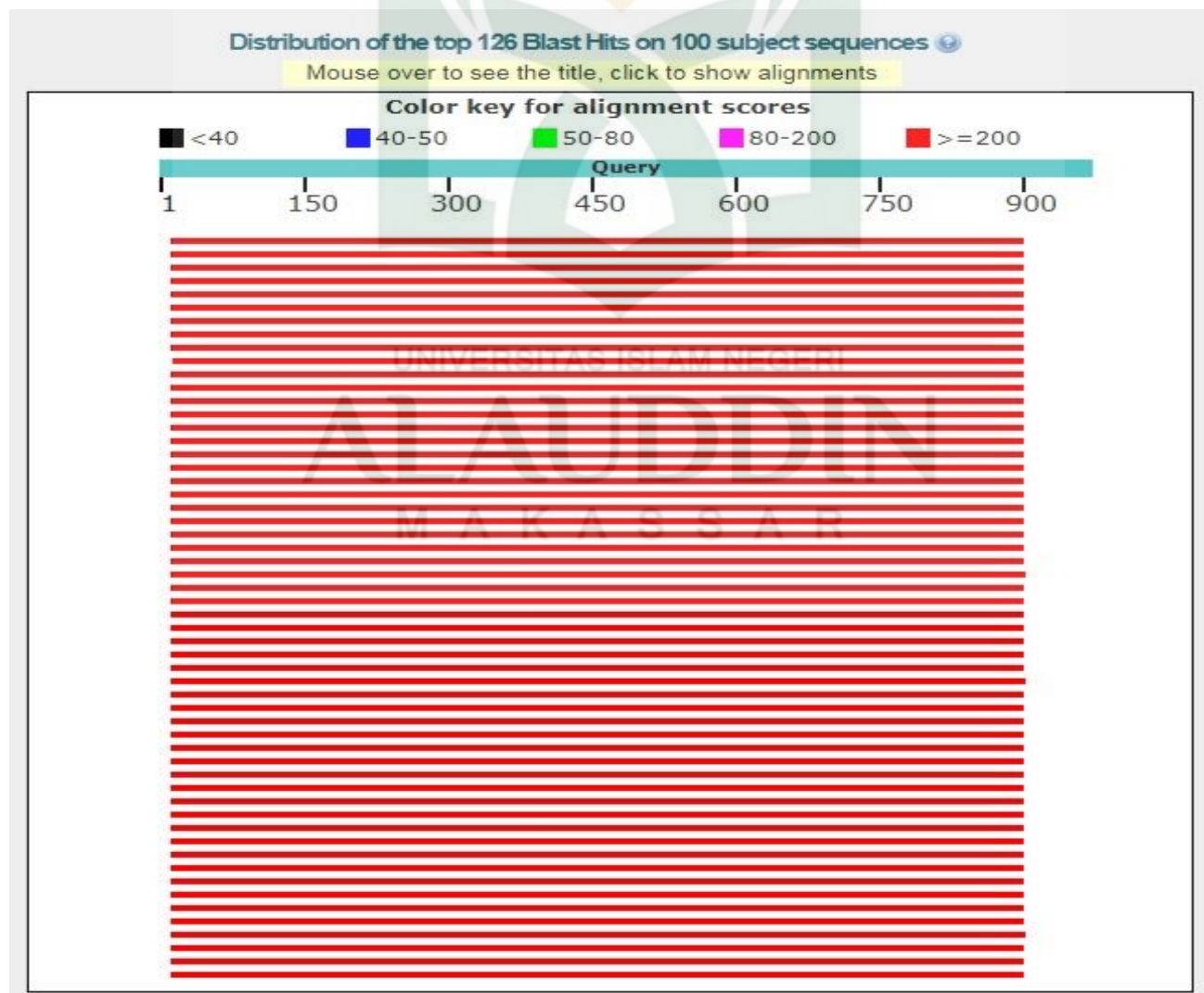
This page will be automatically updated in 7 seconds

BLAST is a registered trademark of the National Library of Medicine

Support center Mailing list YouTube

NCBI
National Center for Biotechnology Information, U.S. National Library of Medicine
8600 Rockville Pike, Bethesda MD, 20894 USA
Policies and Guidelines | Contact

NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE NIH USA.GOV



Sequences producing significant alignments:

Select: [All](#) [None](#) Selected:0

<div>Alignments Download GenBank Graphics Distance tree of results</div>							
		Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
<input checked="" type="checkbox"/>	Bacterium strain N2.11 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1576	1576	91%	0.0	99%	MH571491.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Bacillus cereus strain FC993 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1576	1576	91%	0.0	99%	MH041205.1
<input type="checkbox"/>	Bacillus cereus strain PM2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1576	1576	91%	0.0	99%	KF673164.1
<input type="checkbox"/>	Bacillus sp. cp-h53 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1576	1576	91%	0.0	99%	EU584548.1
<input type="checkbox"/>	Bacillus cereus strain NRNA2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1572	1572	91%	0.0	98%	MH917926.1
<input type="checkbox"/>	Bacillus wiedmannii strain PYK11 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1572	1572	91%	0.0	98%	MF582339.1
<input type="checkbox"/>	Bacillus sp. H320 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1572	1572	91%	0.0	98%	KJ943977.1
<input type="checkbox"/>	Bacillus sp. H319 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1572	1572	91%	0.0	98%	KJ943976.1
<input type="checkbox"/>	Bacillus sp. BAB-4047 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1572	1572	91%	0.0	98%	KJ666164.1
<input type="checkbox"/>	Bacillus thuringiensis strain DW-1T 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1572	1572	91%	0.0	99%	EU240956.1
<input type="checkbox"/>	Bacillus sp. (in: Bacteria) strain DMQ14 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MK070030.1
<input type="checkbox"/>	Bacillus thuringiensis strain RB220 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MG733925.1
<input type="checkbox"/>	Bacillus thuringiensis strain RB182 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MG733924.1
<input type="checkbox"/>	Bacillus sp. (in: Bacteria) strain SPC14 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MK053622.1
<input type="checkbox"/>	Bacillus sp. (in: Bacteria) strain SPC3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MK053611.1
<input type="checkbox"/>	Bacillus cereus strain C5 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MH094128.1
<input type="checkbox"/>	Bacillus sp. (in: Bacteria) strain HM-5 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MF926244.1
<input type="checkbox"/>	Bacillus proteolyticus strain EPP80 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MH085044.1
<input type="checkbox"/>	Bacillus proteolyticus strain EPP66 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MH085042.1
<input type="checkbox"/>	Bacillus cereus strain RTR 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MK014289.1
<input type="checkbox"/>	Bacillus cereus strain RT38 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MK014252.1
<input type="checkbox"/>	Bacillus sp. (in: Bacteria) strain RB143 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MK010847.1
<input type="checkbox"/>	Bacillus sp. (in: Bacteria) strain RB138 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MK010845.1
<input type="checkbox"/>	Bacillus sp. (in: Bacteria) strain RB127 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MK010837.1
<input type="checkbox"/>	Bacillus sp. (in: Bacteria) strain RB70 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MK010836.1

<input type="checkbox"/> Bacillus thuringiensis strain QZL38 chromosome, complete genome	1570	21985	91%	0.0	98%	CP032608.1
<input type="checkbox"/> Bacillus cereus strain SB33 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MH778050.1
<input type="checkbox"/> Bacillus cereus strain BTB32 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MH778042.1
<input type="checkbox"/> Bacillus cereus strain BTB23 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MH778039.1
<input type="checkbox"/> Bacillus cereus strain MYB1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MK002734.1
<input type="checkbox"/> Bacillus cereus strain A7 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MH997647.1
<input type="checkbox"/> Bacillus sp. (in: Bacteria) strain EhS7 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MH997568.1
<input type="checkbox"/> Bacillus sp. (in: Bacteria) strain EhS4 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MH997565.1
<input type="checkbox"/> Bacillus mobilis strain ML-A2C4 chromosome, complete genome	1570	21970	91%	0.0	98%	CP031443.1
<input type="checkbox"/> Bacillus cereus strain H11SmCTM5 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MH985228.1
<input type="checkbox"/> Bacillus cereus strain H10WTTM5 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MH985214.1
<input type="checkbox"/> Bacillus cereus strain H2BuCTM4 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MH985212.1
<input type="checkbox"/> Bacillus cereus strain H7BCTM5 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MH985206.1
<input type="checkbox"/> Bacillus cereus strain H14BCTM5 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MH985185.1
<input type="checkbox"/> Bacillus cereus strain H15SmCTM5 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MH985184.1
<input type="checkbox"/> Bacillus cereus strain H12BCTM5 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MH985180.1
<input type="checkbox"/> Bacillus cereus strain H21FCTM4 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MH985177.1
<input type="checkbox"/> Bacillus sp. (in: Bacteria) strain PRB101 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MH744658.1
<input type="checkbox"/> Bacillus cereus strain JUBN 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MH741259.1
<input type="checkbox"/> Bacillus sp. (in: Bacteria) strain dm79 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MH724874.1
<input type="checkbox"/> Bacillus cereus strain TCR17 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MH718822.1
<input type="checkbox"/> Bacillus sp. (in: Bacteria) strain MS27 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MH699241.1
<input type="checkbox"/> Bacillus sp. (in: Bacteria) strain MS3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MH699239.1
<input type="checkbox"/> Bacillus sp. (in: Bacteria) strain TM-S130 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MH698802.1
<input type="checkbox"/> Bacillus sp. (in: Bacteria) strain TM-S78 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MH698797.1
<input type="checkbox"/> Bacillus sp. (in: Bacteria) strain BGL-38 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MH647668.1
<input type="checkbox"/> Bacillus thuringiensis strain BT 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MH423367.1
<input type="checkbox"/> Bacillus sp. COPE52 chromosome	1570	1570	91%	0.0	98%	CP031292.1
<input type="checkbox"/> Bacillus cereus strain ST06 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MF496242.1
<input type="checkbox"/> Bacillus sp. (in: Bacteria) strain NiuH 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MH778050.1

<input type="checkbox"/> Bacillus cereus strain ATA8. 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MH368135.1
<input type="checkbox"/> Bacillus cereus strain ATA7. 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MH368134.1
<input type="checkbox"/> Uncultured bacterium clone ss01 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MH356588.1
<input type="checkbox"/> Bacillus cereus strain SJC-05 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MH356578.1
<input type="checkbox"/> Bacillus wiedmannii strain F76 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MF682044.1
<input type="checkbox"/> Bacillus wiedmannii strain F26 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MF681998.1
<input type="checkbox"/> Bacillus wiedmannii strain D208 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MF681973.1
<input type="checkbox"/> Bacillus wiedmannii strain D201 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MF681966.1
<input type="checkbox"/> Bacillus wiedmannii strain D198 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MF681963.1
<input type="checkbox"/> Bacillus wiedmannii strain D194 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MF681959.1
<input type="checkbox"/> Bacillus wiedmannii strain D191 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MF681956.1
<input type="checkbox"/> Bacillus wiedmannii strain D188 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MF681953.1
<input type="checkbox"/> Bacillus wiedmannii strain D183 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MF681949.1
<input type="checkbox"/> Bacillus wiedmannii strain D175 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MF681942.1
<input type="checkbox"/> Bacillus thuringiensis strain D157 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MF681929.1
<input type="checkbox"/> Bacillus thuringiensis strain D155 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MF681927.1
<input type="checkbox"/> Bacillus toyonensis strain D151 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MF681923.1
<input type="checkbox"/> Bacillus toyonensis strain D148 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MF681921.1
<input type="checkbox"/> Bacillus wiedmannii strain D138 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MF681914.1
<input type="checkbox"/> Bacillus wiedmannii strain D135 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MF681911.1
<input type="checkbox"/> Bacillus wiedmannii strain D134 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MF681910.1
<input type="checkbox"/> Bacillus sp. (in: Bacteria) strain Bs-X41 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MH298554.1
<input type="checkbox"/> Bacillus cereus strain PSHB2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MH266697.1
<input type="checkbox"/> Bacillus cereus strain BDCGL04 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MH266416.1
<input type="checkbox"/> Bacillus cereus strain JK5 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MF490437.1
<input type="checkbox"/> Bacillus thuringiensis strain FDB-15 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MH260382.1
<input type="checkbox"/> Bacillus thuringiensis strain FDB-6 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MH260380.1
<input type="checkbox"/> Bacillus thuringiensis strain FDB-3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MH260379.1
<input type="checkbox"/> Bacillus thuringiensis strain FDB-2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MH260378.1
<input type="checkbox"/> Bacillus cereus strain SOB 4 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MH260377.1

<input type="checkbox"/> Bacillus sp. (in: Bacteria) strain PUP 26 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MH223407.1
<input type="checkbox"/> Bacterium strain CARR_191 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MH212356.1
<input type="checkbox"/> Bacillus toyonensis strain PgBe301 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MH211321.1
<input type="checkbox"/> Bacillus toyonensis strain PgBe181 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MH211272.1
<input type="checkbox"/> Bacillus thuringiensis strain F14 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MF135180.1
<input type="checkbox"/> Bacillus thuringiensis strain F4 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MF135175.1
<input type="checkbox"/> Bacillus thuringiensis strain F3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MF135173.1
<input type="checkbox"/> Bacillus sp. (in: Bacteria) strain SP9 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MH191109.1
<input type="checkbox"/> Bacillus wiedmannii strain PG15 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MH178362.1
<input type="checkbox"/> Bacillus wiedmannii strain PP40 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MH178361.1
<input type="checkbox"/> Bacillus cereus strain KK2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MH173816.1
<input type="checkbox"/> Bacillus thuringiensis strain WAB2156 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MH169323.1
<input type="checkbox"/> Bacillus cereus strain WAB2133 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MH169322.1
<input type="checkbox"/> Bacillus sp. (in: Bacteria) strain MarG2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1570	1570	91%	0.0	98%	MH161572.1

RIWAYAT HIDUP



Nama penulis yaitu Hayati. Penulis dilahirkan di Lawas Malaysia pada tanggal 12 Agustus 1996. Penulis berasal dari sekolah SMA Negeri 1 Masamba. Nama orang tua penulis ayah Ridwan Bin Site dan ibu Nur Liati. Penulis menyelesaikan pendidikan dasar di SDN Negeri 100 Lamaranginang lulus pada tahun 2008, pendidikan menengah pertama di SMP Negeri 1 Masamba lulus pada tahun 2011, dan pendidikan menengah atas di SMA Negeri 1 Masamba dan lulus pada tahun 2014. Penulis diterima sebagai mahasiswa pada program studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri (UIN) Alauddin Makassar pada tahun 2014 melalui jalur UMM. Penulis pernah melakukan PKL (Praktek Kerja Lapangan) Internasional di Universiti Teknologi Malaysia. Organisasi yang diikuti penulis selama jadi mahasiswa yaitu HMJ (Himpunan Mahasiswa Jurusan) Biologi periode 2015/2016.